

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS**



**TESIS**

**SIMULACIONES DE CEPILLOS POLI- Y MONODISPERSOS COMO  
MODELOS DE CEPILLOS DE CÉLULAS EPITELIALES  
CANCEROSAS Y SANAS**

**PRESENTADA POR**

**JUAN DE DIOS HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN INGENIERÍA FÍSICA INDUSTRIAL**

**FEBRERO, 2019**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS**  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS**



**TESIS**

**SIMULACIONES DE CEPILLOS POLI- Y MONODISPERSOS COMO  
MODELOS DE CEPILLOS DE CÉLULAS EPITELIALES  
CANCEROSAS Y SANAS**

**PRESENTADA POR**

**JUAN DE DIOS HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN INGENIERÍA FÍSICA INDUSTRIAL**

**BAJO LA DIRECCIÓN DE  
DR. SERGIO JAVIER MEJÍA ROSALES  
DR. ARMANDO GAMA GOICOCHEA**

**SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

**FEBRERO 2019**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO-MATEMÁTICAS

SIMULACIONES DE CEPILLOS POLI- Y MONODISPERSOS COMO  
MODELOS DE CEPILLOS DE CÉLULAS EPITELIALES CANCEROSAS Y  
SANAS

---

Dr. Sergio Javier Mejía Rosales  
Presidente

---

Dr. Armando Gama Goicochea  
Secretario

---

Dr. Jorge Luis Menchaca Arredondo  
1er. Vocal

---

Dr. Omar González Amezcua  
2do. Vocal

---

Dr. José Elías Pérez López  
3er. Vocal

San Nicolás de los Garza, N.L, Febrero de 2019

*Para mis padres...*

*“Intenta no volverte un hombre de éxito,  
sino volverte un hombre de valor”*  
Albert Einstein

# Agradecimientos

Quiero agradecer a CONACYT por la beca otorgada que me permitió realizar estos estudios.

También quiero agradecer a las instituciones en las cuales estuve realizando este trabajo. Al Centro de Investigación en Ciencias Físico Matemáticas de la Universidad Autónoma de Nuevo León por brindarme un espacio donde trabajar estos más de 4 años. Al Instituto de Física de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por el tiempo, espacio e infraestructura permitidos que fueron fundamentales para este trabajo. Y al Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec por las facilidades proporcionadas en el tiempo que estuve con ellos.

A las instituciones en las cuales no estuve, pero la infraestructura que me ofrecieron me ayudó a hacer todo esto. Al CNS del IPICYT, al ACARUS de la UNISON y al Laboratorio de Supercómputo de la UAEM.

También quiero agradecer a los profesores que de alguna manera sus enseñanzas me ayudaron a terminar este trabajo. Al Dr. Sergio Mejía y al Dr. Armando Gama por acceder a ser mis asesores de tesis y principalmente por el tiempo invertido en mi formación profesional. Al Dr. Jorge Menchaca y al Dr. Elías Pérez por su tiempo y las discusiones valiosas. Al Dr. Roberto López por la infraestructura facilitada que fue esencial para finalizar este trabajo. Al Dr. Miguel Balderas por las tantas charlas técnicas que fueron de gran ayuda.

Personalmente quiero agradecer a la familia Gama, a Eva, a Miguel, a Lupita y al doc Armando, por la amabilidad y acogerme de tal manera el tiempo que estuve con ellos. A los chicos del Laboratorio de Polímeros del IF-UASLP por los buenos ratos ahí.

Y más importante, quiero agradecer a mis padres Juan Antonio Hernández y Yolanda Velázquez, por estar, por ser, ayudarme, motivarme, por todo. A mis hermanos y a toda mi familia.

# Índice general

<b>Agradecimientos</b>	<b>III</b>
<b>Índice general</b>	<b>V</b>
<b>Lista de figuras</b>	<b>IX</b>
<b>Lista de tablas</b>	<b>XVII</b>
<b>Resumen</b>	<b>XIX</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Cáncer . . . . .	2
1.2. Cepillos pericelulares . . . . .	3
1.3. Esta tesis . . . . .	5
<b>2. Dinámica de Partículas Disipativas</b>	<b>7</b>
2.1. Introducción . . . . .	8
2.2. Método DPD . . . . .	9
2.2.1. Modelo de fuerzas . . . . .	9
2.2.2. Teorema de fluctuación-disipación en DPD . . . . .	11
2.2.3. Ecuación de estado DPD y parámetros de interacción $a_{ij}$ .	12
2.2.4. Algoritmo de integración . . . . .	14

2.2.5.	Unidades reducidas de DPD . . . . .	15
2.3.	Diseño de los cepillos pericelulares . . . . .	16
2.4.	Confinamiento de los cepillos . . . . .	18
<b>3.</b>	<b>Propiedades Reológicas</b>	<b>22</b>
3.1.	Introducción . . . . .	23
3.2.	Diferencias entre CENs y CECs . . . . .	25
3.2.1.	Detalles computacionales . . . . .	25
3.2.2.	Perfiles de densidad y grosor promedio de los cepillos $\langle h \rangle$	28
3.2.3.	Perfiles de fuerza . . . . .	33
3.2.4.	Tensión interfacial $\gamma$ . . . . .	37
3.2.5.	Viscosidad $\eta$ y COF $\mu$ . . . . .	38
3.3.	Efectos de la perturbación externa . . . . .	42
3.3.1.	Detalles computacionales . . . . .	43
3.3.2.	Perfiles de densidad y grosor promedio de los cepillos $\langle h \rangle$	44
3.3.3.	Perfiles de fuerza . . . . .	45
3.3.4.	Tensión interfacial $\gamma$ . . . . .	47
3.3.5.	Viscosidad $\eta$ y COF $\mu$ . . . . .	48
3.4.	Perfiles de extremos libres . . . . .	52
3.5.	Conclusiones . . . . .	54
<b>4.</b>	<b>Propiedades Geométricas</b>	<b>57</b>
4.1.	Introducción . . . . .	58
4.2.	Detalles computacionales . . . . .	60
4.3.	Grosor promedio $\langle h \rangle$ . . . . .	61
4.4.	Dimensión fractal (DF) . . . . .	62
4.5.	Lagunaridad $\Lambda$ . . . . .	68
4.6.	Conclusiones . . . . .	72

<b>5. Conclusiones y perspectivas</b>	<b>75</b>
<b>Apéndice A</b>	<b>78</b>
<b>A. Imágenes topográficas</b>	<b>78</b>
<b>Apéndice B</b>	<b>84</b>
<b>B. Publicaciones y Presentaciones</b>	<b>84</b>
<b>Referencias</b>	<b>87</b>

# Lista de Figuras

1.1.	Cepillo pericelular que se puede encontrar en la superficie celular. . . . .	3
1.2.	Imágenes de vista lateral obtenidas por la SEM de células individuales, de un carcinoma de mama (A) y de una célula de mama sana (B). Esta figura pertenece y se encuentra en el trabajo de Babahosseini <i>et al.</i> [1] . . . . .	4
2.1.	Representación esquemática del mapeo DPD de un fluido simple hecho por agua. En este caso se utilizó un grado de refinamiento $N_m = 3$ , i.e., el número de moléculas de agua que están dentro de un bead DPD (círculo azul). Figura adaptada de la Ref. [2]. . . . .	8
2.2.	Representación esquemática de la interacción entre partículas DPD (a) y gráfica simplista de la fuerza conservativa $\mathbf{F}_{ij}^C$ (b), $a_{ij}$ es el valor máximo que alcanza $\mathbf{F}_{ij}^C$ (ver ecuación 2.2) y $r_c$ es el radio de corte de la fuerza. Figura adaptada de la Ref. [2]. . . . .	10
2.3.	Representación esquemática de la fuerza disipativa (a) y de la fuerza aleatoria (b), definidas por las ecuaciones 2.3 y 2.4, respectivamente. Donde $r_c$ es el radio de corte de las fuerzas. Figura adaptada de la Ref. [2]. . . . .	11
2.4.	En la Figura (a) mostramos una representación gráfica de la estructura de las cadenas que conforman a los cepillos CENs (cadena 1) y CECs (cadenas 2, 3 y 4). En la Figura (b) y (c), mostramos el modelo del cepillo de la CEN y de la CEC, respectivamente, y en la (d) los enlaces entre dos y tres cuerpos. En donde $k_s$ y $k_\theta$ son las constantes de las fuerzas que representan los enlaces entre dos y tres cuerpos, respectivamente (ver ecuaciones 2.27 y 2.28). . . . .	17



2.5.	(a) Imagen simplista del funcionamiento del AFM. (b) Imagen de una punta de AFM realizada con un microscopio electrónico de barrido. El recuadro muestra la ampliación de la punta, donde se puede apreciar una geometría piramidal embotada con un cierto radio de curvatura. La barra de escala dentro del recuadro blanco es de 100 nm. La imagen (b) pertenece al trabajo de F. Rico <i>et al.</i> [3]. . . . .	19
2.6.	Representación esquemática del set experimental propuesto (a) y representación de los cepillos de CECs (b) y CENs (c) confinados por la superficie curva (beads grises) que representa la punta del AFM situada a una distancia $d$ de la superficie de la célula que se mantiene fija durante el tiempo de simulación; $v_x$ es la velocidad con la que se mueve la superficie de la célula. Las constantes $k_s$ y $k_\theta$ son las constantes de las fuerzas entre dos y tres cuerpos, respectivamente (ver sección 2.3). . . . .	21
3.1.	Gráfica convencional sobre las tendencias del esfuerzo $\tau$ en función de la velocidad de deformación $\dot{\gamma} = dv/dt$ de materiales viscosos. La pendiente de cada línea varía entre materiales. . . . .	24
3.2.	Bosquejo que muestra la forma en que se generan los perfiles de las propiedades, donde $\Delta z$ es el tamaño de las rebanadas a lo largo de la dirección donde se genera el perfil, $N$ es el número de partículas DPD que hay en cada rebanada y $X$ puede ser cualquier variable que se quiera medir en el sistema, como densidad, algún componente de la fuerza o velocidad, etc. . . . .	28
3.3.	Perfiles de densidad de los sistemas de cepillos <i>libres</i> de CENs con una baja y alta densidad de injertos $\Gamma_2$ (a) y $\Gamma_1$ (b), y de CECs con $\Gamma_1$ (c). El perfil del solvente está representado por círculos, mientras que el perfil de los cepillos por líneas continuas. El panel (d) muestra los grosores promedios de los cepillos. Todas las cantidades que mostramos en esta figura están expresadas en unidades reducidas DPD. . . . .	30

3.4.	Perfiles de densidad de los cepillos de CECs y CENs <i>confinados en reposo</i> (curvas negras) y <i>perturbados</i> (curvas azules). Las gráficas (a), (c) y (e) corresponden a los perfiles de densidad de cepillos <i>suaves</i> y las gráficas (b), (d) y (f) a los perfiles de densidad de cepillos <i>rígidos</i> . El eje $x$ representa la dirección en $z$ de la caja de simulación, normalizada por el grosor promedio del cepillo <i>libre</i> de cada sistema. El eje $y$ es la concentración reducida. La amplitud y frecuencia del movimiento oscilatorio son $A = 2$ y $\omega = \pi/100 \Delta t$ , respectivamente. Todas las cantidades aquí mostradas están en unidades reducidas DPD. La flecha en la gráfica (f), indica una pequeña capa de solvente que se forma cerca de la superficie celular. . . . .	32
3.5.	Grosor promedio $\langle h \rangle$ de los cepillos <i>libres</i> (barras rojas), los <i>confinados en reposo</i> (barras negras) y los <i>confinados perturbados</i> (barras azules), para sistemas CECs y CENs. Las cantidades están en unidades reducidas DPD. . . . .	33
3.6.	Curvas de fuerza de los cepillos de CENs (a) y CECs (b) en función de la distancia entre la superficie celular y la punta del AFM. Esta Figura se encuentra en el trabajo de S. Iyer <i>et al.</i> en la Ref. [4]. . . . .	34
3.7.	Perfiles de fuerza de los sistemas de cepillos <i>libres</i> . Las líneas con símbolos huecos corresponden a los perfiles de la fuerza promedio normal a la superficie de la célula ( $\langle F_N \rangle$ ) y las líneas con símbolos llenas corresponden a los perfiles de la fuerza promedio tangencial a la superficie de la célula ( $\langle F_T \rangle$ ); $l_z$ es el tamaño de la caja de simulación en la dirección $z$ . Los símbolos son solo un distintivo. Las unidades están en unidades reducidas DPD. . . . .	35
3.8.	Perfiles de fuerza de los sistemas de cepillos <i>confinados</i> . En el panel (a) mostramos los perfiles de los sistemas de cepillos <i>en reposo</i> y en el panel (b) los sistemas de cepillos <i>perturbados</i> , la amplitud y la frecuencia de la velocidad oscilatoria externa es de $A = 2$ y $\omega = \pi/100 \Delta t$ , respectivamente y $d$ es la distancia de separación entre la superficie celular y la superficie de la punta del AFM. Las cantidades están en unidades reducidas DPD. . . . .	36
3.9.	Perfiles de la tensión interfacial de los sistemas de cepillos confinados en reposo (a) y perturbados (b). La velocidad oscilatoria externa aplicada a los sistemas del panel b tiene amplitud de $A = 2$ y frecuencia de $\omega = \pi/100 \Delta t$ . Las flechas en la gráfica (b) indican el punto donde comienza la interfaz solvente-cepillo. Las cantidades mencionadas en esta figura están en unidades reducidas DPD. . . . .	38

3.10. Perfiles de la velocidad promedio $\langle v \rangle$ (a) y perfiles de la velocidad de corte $= \langle v \rangle / \Delta z$ (b). Los ejes $x$ están normalizados por $d$ , que es la distancia entre la superficie de la célula y el punto más cercano a la superficie de la punta del AFM. Las unidades que aparecen aquí están en unidades reducidas DPD. . . . .	39
3.11. Perfiles de viscosidad de cepillos <i>suaves</i> (a) y <i>rígidos</i> (b). Las líneas punteadas azules y negras corresponden a los valores de $\eta'_0$ (ver tabla 3.4). Las curvas discontinuas rojas son el ajuste que corresponde a la ecuación (3.10). La región marcada por el óvalo está descrita en el texto. Los ejes $x$ de ambas gráficas representan la dirección $z$ del sistema normalizada por $d$ que es la distancia mínima entre la superficie celular y la punta del AFM. Las cantidades están en unidades reducidas DPD. . . . .	40
3.12. Comparación entre los perfiles del COF de los cepillos <i>suaves</i> (a) y <i>rígidos</i> (b) mostrando los tres diferentes modelos de cepillos, polidispersos (cuadros) y monodispersos con una baja y alta densidad de injertos (triángulos y círculos respectivamente). El eje $x$ representa la dirección de confinamiento normalizada por la distancia entre la superficie celular y la superficie de la punta del AFM. . . . .	42
3.13. Perfiles de densidad de los sistemas en <i>reposo</i> (a) y aquellos influenciados por el movimiento oscilatorio externo (b-d). Los valores están en unidades reducidas DPD. . . . .	45
3.14. Grosor promedio de los cepillos bajo el efecto de la perturbación oscilatoria externa a diferentes valores de amplitud $A$ y frecuencia $\omega$ , ver tabla 3.4. El cepillo <i>libre</i> se refiere al cepillo que no está confinado por la superficie curva que representa a la punta del AFM. El ajuste (curva azul en el panel b), solo es válido para los valores de amplitud mostrados. . . . .	46
3.15. Perfiles de la componente normal (a) y tangencial (b) de la fuerza de los sistemas de CECs en unidades reducidas DPD. La numeración de los sistemas hace referencia a los sistemas que están bajo la influencia del movimiento oscilatorio externo con los parámetros de amplitud y frecuencia mostrados en la Tabla 3.2. . . . .	46

3.16. (a) Perfiles de la tensión interfacial de los sistemas de CECs <i>confinados</i> ; al igual que en la figura anterior los números de los sistemas son los que corresponden a los de la Tabla 3.2. (b) Curva de la tensión interfacial promedio dependiente de la amplitud del movimiento oscilatorio externo para ambos casos de frecuencia; la curva azul es la curva de ajuste. Las cantidades están en unidades reducidas DPD. . . . .	47
3.17. (a) Perfiles de velocidad promedio y (b) perfiles de velocidad de corte de los sistemas de CECs <i>perturbados</i> . Los números se refieren a los sistemas mostrados en la Tabla 3.2. Las cantidades están en unidades reducidas DPD. . . . .	49
3.18. (a) Perfiles de viscosidad y (b) perfiles del COF de los sistemas de CECs confinados, el recuadro mostrado en el panel b es una ampliación de la gráfica. Las curvas discontinuas representan el ajuste que corresponde a la ecuación (3.10). Los números de los sistemas corresponden a los mostrados en la tabla 3.4 y todas las cantidades mostradas en esta figura están en unidades reducidas DPD. . . . .	50
3.19. Tendencias de la viscosidad y el COF. En el panel a mostramos los resultados de viscosidad reportados por Eslami y Müller-Plathe [5] que muestran una tendencia similar a la encontrada en este trabajo (panel b). En el panel c mostramos los resultados de Kobayashi y Takahara [6] los cuales muestran una tendencia del COF que concuerda con la reportada en este trabajo. Más detalles en el texto principal. Las unidades de las gráficas (b) y (d) están en unidades reducidas DPD. Las líneas discontinuas solo son guías. . . . .	51
3.20. Distribuciones de los extremos libres de las cadenas que conforman los cepillos cancerosos <i>suaves</i> (a)-(c) y <i>rígidos</i> (d)-(f). Mostramos las distribuciones separadas por el tamaño de las cadenas; cortas (a) y (d), medianas (b) y (e), y largas (c) y (f). Las curvas punteadas son el ajuste hecho mediante la ecuación 3.12 . . . . .	53
3.21. Distribuciones de los extremos libres de las cadenas que conforman los cepillos normales <i>suaves</i> (a) y <i>rígidos</i> (b), en equilibrio ( $A = 0$ ) y bajo la influencia del movimiento oscilatorio externo ( $A = 2$ , $\omega = \pi/100\Delta t$ ), y a las dos diferentes densidades de injertos usadas ( $\Gamma_1 = 1.0225$ cadenas/unidad de área y $\Gamma_2 = 0.325$ cadenas/unidad de área). . . . .	53

3.22.	La gráfica (a) son perfiles de densidad de sistemas de cepillos bimodales a diferentes intensidades de fuerza de corte, las cadenas tienen una diferencia de longitudes relativa de 0.625 y una densidad de injertos adimensional de 0.1 cadenas por unidad de área. La gráfica (a) pertenece al trabajo de M. G. Saphiannikova <i>et al.</i> [7]. La gráfica (b) pertenece al trabajo de P. S. Doyle <i>et al.</i> [8], y son perfiles de densidad de cepillos comprimidos en equilibrio (curva discontinua) y bajo la influencia de un flujo oscilatorio (curva continua). El recuadro de la figura (b) son perfiles de sistemas de suspensiones de esferas libres bajo un flujo oscilatorio. . . . .	55
4.1.	Grosor promedio de los cepillos <i>suaves</i> y <i>rígidos</i> de las CENs y CECs en <i>buen</i> y <i>mal</i> solvente. Los valores están en unidades reducidas DPD. . . . .	61
4.2.	Vista lateral de los cepillos. La superficie hecha por partículas DPD de color gris representa la superficie de la punta del AFM. El solvente ha sido obviado para una mejor visualización. . . . .	62
4.3.	Bosquejo simplista para mostrar la asignación de coordenadas en el mapa de píxeles a cada partícula DPD, en donde $L_x$ y $L_y$ son las longitudes de la imagen en las direcciones $x$ y $y$ , y $N_x \wedge N_y \in \mathbb{N}$ son los números de píxeles en sus respectivas direcciones. . . . .	63
4.4.	(a) Representación esquemática de la altura para una partícula DPD en función de la distancia $r$ , donde $r \in [0, r_c]$ , siendo $r_c$ el radio de la partícula. (b) Altura de una partícula DPD en el mapa de píxeles; la intensidad de los píxeles rellenos representa la magnitud de la altura. En este bosquejo el blanco representa la intensidad mayor y el negro la intensidad menor. . . . .	64
4.5.	Imágenes de la topografía de los cepillos pericelulares a las que se les calculó la DF. La resolución de estas imágenes es de $1024 \times 1024$ píxeles. . . . .	65
4.6.	Imágenes de la 2D-FFT ((a)-(d); (i)-(l)) correspondientes a las imágenes de la Figura 4.5 con sus respectivas curvas $A(Q)$ ((e)-(h); (m)-(p)). Las líneas rojas de estas últimas representan los ajustes de la región delimitada por las líneas horizontales negras, la ecuación de cada ajuste viene en la parte inferior de su respectiva gráfica. La intensidad de las imágenes de la 2D-FFT están normalizados con la intensidad máxima de cada imagen. Para fines de visualización la intensidad máxima (color blanco) en cada imagen fue reducida a 0.0001. La tabla 4.2 muestra los valores de la intensidad mínima (color negro) de las imágenes (a)-(d); (i)-(l). . . . .	66

4.7.	Dimensión fractal de las imágenes topográficas de los modelos de cepillos <i>suaves</i> (panel a) y <i>rígidos</i> (panel b) a diferentes resolución. Las barras de error representan el error estándar. . . . .	68
4.8.	Ilustración que representa la idea básica del algoritmo DBC. En este ejemplo tenemos una GB de $4 \times 4$ , donde $u = 1$ y $v = 4$ , por lo tanto $I = 4 - 1 + 1 = 4$ . . . . .	70
4.9.	Lagunaridad en función del tamaño de GB $\Lambda(\varepsilon)$ (en escala log - log) de las imágenes de los cepillos <i>suaves</i> ((a)-(b)) y <i>rígidos</i> ((c)-(d)) en los dos tipos de calidad de solvente, para las diferentes resoluciones elegidas. Las líneas punteadas son solo guías que unen los puntos. . . . .	71
4.10.	Curvas de lagunaridad $\Lambda$ , en función del tamaño de caja $\varepsilon$ , en escala log-log (a) de imágenes experimentales de células epiteliales cervicales humanas (b)-(e) generadas por AFM. La resolución de las imágenes es de $512 \times 512$ píxeles. Las líneas continuas representan el ajuste lineal de las curvas, cuya pendiente se relaciona con la DF de la imagen (ver leyenda del panel a). Las líneas discontinuas solo sirven como guías para unir los puntos. Las imágenes topográficas, (b)-(e), fueron extraídas de los trabajos de Dokukin <i>et al.</i> [9] y Guz <i>et al.</i> [10]. . . . .	72
4.11.	Lagunaridad media de los cepillos a diferente resolución de imagen. Las líneas discontinuas solo son guías que unen los puntos. . . . .	73
4.12.	Dimensión fractal de las imágenes de los cepillos para las diferentes resoluciones de imagen, calculada a través de la ecuación 4.10. Las barras de error representan el error estándar. Las líneas punteadas son solo guías que unen los puntos. . . . .	74
A.1.	Imágenes topográficas de los cepillos a 3 diferentes resoluciones ( $128 \times 128$ , $256 \times 256$ y $512 \times 512$ píxeles). . . . .	82

# Lista de Tablas

2.1.	Nomenclatura y dimensiones de las variables y parámetros en este trabajo . . .	16
2.2.	Valor de las constantes que aparecen en las fuerzas de enlace y angular (Ecuaciones 2.27 y 2.28) en unidades reducidas DPD. . . . .	18
2.3.	Tabla de los parámetros de interacción que corresponden a la fuerza conservativa DPD y a la fuerza entre la superficie de la célula y las partículas DPD del sistema, en unidades reducidas DPD. <b>S</b> = Solvente, <b>H</b> = Cabeza de la cadena, <b>T</b> = Cola de la cadena, <b>AFM</b> = Superficie de la punta del AFM y <b>C</b> = Superficie de la célula. . . . .	20
3.1.	Tabla que contiene el volumen efectivo que hay en cada sistema ( <b>V</b> ) así como el número de partículas DPD ( <b>N</b> ) de cada especie. Los subíndices <b>s</b> y <b>c</b> corresponden a las especies moleculares de solvente y cepillo, respectivamente. . . . .	26
3.2.	Tabla de parámetros para los sistemas de cepillos <i>confinados</i> . Donde <b>A</b> es la amplitud y $\omega$ es la frecuencia de la fuerza oscilatoria aplicada a los cepillos y $k_\theta$ es el valor de la constante de la fuerza angular de las cadenas. Las cantidades están en representadas en unidades reducidas DPD. . . . .	27
3.3.	Tabla de valores de la fuerza normal promedio $\langle F_N \rangle$ y la fuerza tangencial promedio $\langle F_T \rangle$ en la región de bulto ( $0.25 \lesssim z/l_z \lesssim 0.80$ ) de los cepillos <i>libres</i> . Los valores están expresados en unidades reducidas DPD. . . . .	35
3.4.	Tabla de parámetros $\eta'_0$ , <b>c</b> y <b>b</b> de la ecuación 3.10 en unidades reducidas DPD, la cual fue utilizada para hacer un ajuste a los perfiles de viscosidad mostrados en la Figura 3.11. . . . .	41
3.5.	Tabla de parámetros de los sistemas de cepillos de CECs <i>confinados</i> , siendo <b>A</b> y $\omega$ la amplitud y la frecuencia del movimiento oscilatorio externo ejercido sobre los cepillos. Las cantidades están en unidades reducidas DPD. . . . .	43

3.6.	Tabla de porcentajes de reducción de $\langle h \rangle$ tomando como el 100 % el valor de $\langle h \rangle$ del cepillo <i>libre</i> . . . . .	44
3.7.	Tabla de parámetros $\eta'_0$ , $c$ y $b$ de la ecuación 3.10 en unidades reducidas DPD, la cual fue utilizada para hacer un ajuste a los perfiles de viscosidad mostrados en la Figura 3.18. . . . .	49
4.1.	Tabla de los parámetros de interacción de la fuerza conservativa DPD y a la fuerza de la superficie efectiva (ecuación 2.31) en unidades reducidas DPD. Los valores entre paréntesis corresponden a los sistemas con <i>mal</i> solvente. <b>S</b> = Solvente, <b>H</b> = Cabeza de la cadena, <b>T</b> = Cola de la cadena, <b>AFM</b> = Superficie de la punta del AFM y <b>C</b> = Superficie de la célula. . . . .	61
4.2.	Tabla de valores de la intensidad mínima (color negro) de las imágenes de la 2D-FFT (Figura 4.6(a)-(d); 4.6(i)-(l)). . . . .	67



# Resumen

En este trabajo proponemos una metodología para estudiar sistemas con estructuras tipo cepillo, los cuales están conformados por cadenas lineales. Tales sistemas son propuestos como modelos para representar las estructuras pericelulares que se han observado en las superficies de células epiteliales humanas. Estos modelos simulados mediante un método computacional de grano grueso llamado Dinámica de Partículas Disipativas (DPD), fueron generados con la finalidad específica de representar las diferencias estructurales, morfológicas y físicas que existen entre las superficies de células epiteliales humanas sanas y aquellas que han pasado a ser cancerosas. Cabe mencionar que estos modelos fueron hechos a sabiendas que estos cepillos varían en su composición, tanto en el grado de dispersión en las longitudes de las moléculas que conforman a los cepillos, cómo en la densidad de injertos de estas moléculas sobre la superficie celular. Dichas diferencias han sido reportadas por trabajos experimentales, los cuales demuestran lo esencial que son los estudios de las propiedades biomecánicas de los cepillos como una entidad independiente a la membrana celular para fines de caracterización.

La metodología que proponemos en este trabajo se basa en estudios realizados con la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM, por sus siglas en inglés). Lo que hacemos es confinar a los cepillos con una superficie con cierto radio de curvatura, la cual representa la superficie de una punta de AFM, separada cierta distancia de la superficie donde están injertadas las cadenas, la cual representa a la superficie de la membrana celular. Además, sometemos al sistema a una perturbación oscilatoria externa, la cual genera una fuerza de corte que nos permite estudiar ciertas propiedades reológicas de los cepillos, como lo son la viscosidad y el coeficiente de fricción (COF).

También realizamos un estudio sobre algunas propiedades geométricas, como la fractalidad y la lagunaridad, de las imágenes topográficas generadas por nuestras simulaciones, tratando de asemejar aquellas que se obtienen con la AFM,

con el fin de comparar las tendencias que se han reportado hasta hoy en día para sistemas similares.

De los resultados obtenidos en este trabajo encontramos que, propiedades como el grosor promedio de los cepillos, la fuerza neta del sistema, la tensión interfacial, la viscosidad y el COF, dependen directamente del movimiento oscilatorio externo. En resumen, encontramos que la tensión interfacial entre el cepillo y el solvente aumenta con la amplitud del movimiento externo; también, encontramos que el grosor promedio, la viscosidad y el COF disminuye conforme aumenta la amplitud. Por otra parte, encontramos diferencias significativas en la respuesta mecánica entre los modelos de cepillos de células cancerosas y normales, de donde emergen las diferencias en las propiedades como viscosidad, tensión interfacial y COF. Adicionalmente, encontramos que las tendencias de la DF de las imágenes topográficas de los cepillos extraída mediante dos tipos de análisis de imágenes, coincide con las tendencias reportadas en la literatura. En general, encontramos que la DF de las imágenes de cepillos de células cancerosas, es mayor que la de sus contrapartes sanas, mientras que la lagunaridad de las imágenes de cepillos de células normales es mayor que la de los cepillos cancerosos.

Es importante mencionar que nuestros modelos son hechos como primera aproximación, y que si uno desea estudiar un tipo de célula epitelial de algún tejido en particular, tendría que considerar la composición química de los cepillos y el ambiente en el cual estos se encuentran. Además, habría que considerar los parámetros que hemos mencionado, que son la densidad superficial de injertos y la dispersión en las longitudes de las moléculas que componen al cepillo. Sin embargo, creemos que la metodología propuesta aportará ideas para realizar posteriormente estudios más profundos y poder modelar sistemas más específicos.

*I*

---

*Introducción*

**1.1. Cáncer**

A mediados y finales del siglo XIX surgieron deducciones, al día de hoy obvias, sobre los tejidos y cómo se generan; tal que hoy en día sabemos que un óvulo fertilizado puede generar todas las células de nuestro cuerpo mediante frecuentes ciclos de crecimiento y división celular. Así, sabemos que todas las células del cuerpo de un organismo complejo pertenecen a linajes celulares que uno puede rastrear hasta dar con las del óvulo fertilizado al cual pertenecen.

Este concepto se extendió hacia los tumores, los cuales al igual que los tejidos normales, eran (y son) estudiados por la ciencia llamada histología o histopatología. Estos estudios revelaron que los tumores estaban hechos de masas celulares al igual que los tejidos normales; además, muchos pacientes de entonces presentaban dichos tumores en partes anatómicas del cuerpo muy distantes a aquella en donde era visto por primera vez en el paciente (posteriormente lo conoceríamos como metástasis). Algo sin duda importante fue la información detallada sobre la organización de las células de los tumores, pues éstas mostraban una arquitectura menos estructurada y organizada que las secciones de tejido normal. Esto llevó a considerar al cáncer como una enfermedad de células malfuncionantes, cuyo trabajo principal es aparentemente clonarse a sí mismas [11]. Éste no ha sido el único modelo propuesto para explicar el cáncer, pues hasta la octava década del siglo pasado ya habían diversos modelos que explicaban el posible origen de esta enfermedad [12].

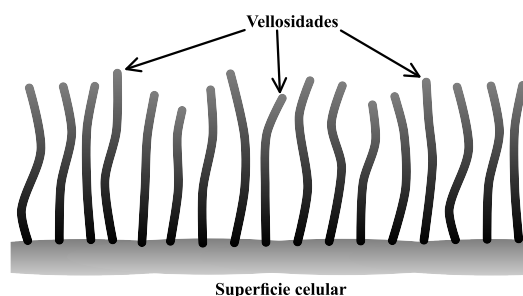
A medida que fueron avanzando los estudios relacionados al cáncer, el conocimiento sobre los procesos bioquímicos y genéticos que daban origen a esta enfermedad aumentaba; tal que, se logró diferenciar entre tumores benignos y malignos [13] debido a que se establecieron relaciones entre la naturaleza del tumor en el paciente y las características microscópicas de los tumores [11]. A raíz de esto, surgen estudios enfocados en el comportamiento molecular, genético y de la alta actividad proliferativa de las células tumorosas de los diferentes tipos de cáncer. Entre los diversos tipos de cáncer que existen, se sabe que los carcinomas causan más del 80 % de las muertes en la parte occidental del planeta; estos tumores se originan mayormente en los tejidos epiteliales [11], por lo que estudiar las células pertenecientes a estos tejidos se ha vuelto de suma importancia para entender desde los mecanismos bioquímicos de la transformación de una célula sana a una cancerosa, hasta los procesos que dan origen a la metástasis. En el año 2015, GLOBOCAN reportó que hasta el año 2012 se conocían alrededor de 14.1 millones de casos nuevos de cáncer y que aproximadamente 8.2 millones de

muertes debidas al cáncer ocurren cada año; cifras que se esperan incrementen por los estilos de vida y el crecimiento de la población [14].

## 1.2. Cepillos pericelulares

Existe un gran número de investigaciones en biología celular que tratan el problema de la metástasis. Algunos trabajos se han enfocado en explicar la invasión de las células cancerosas hacia los tejidos cercanos al tumor de origen, encontrando que existen diferentes mecanismos de migración celular y diversos factores que vuelven a las células cancerosas más móviles [15–19].

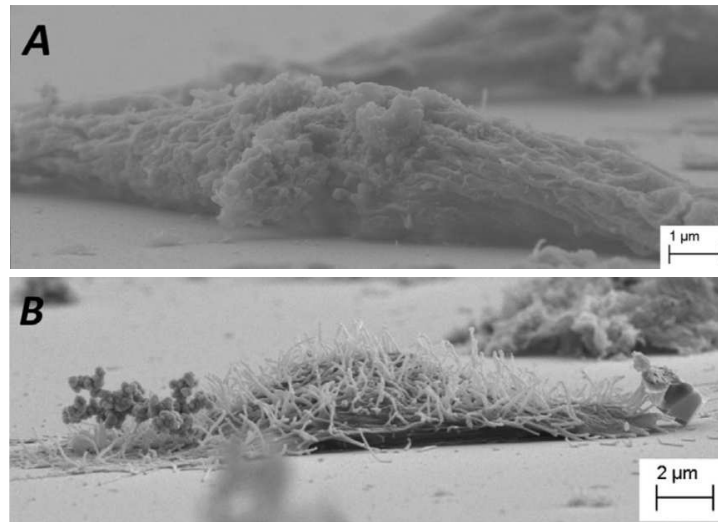
Actualmente, el uso de la AFM ha demostrado ser de mucha ayuda en la investigación de tales células [1, 20–24]; donde algunos resultados demuestran que el módulo de Young de las células cancerosas, en general, es menor que el de las células normales [21, 25–27]. Estas indagaciones revelan la importancia de dirigir esfuerzos a la investigación de las superficies de dichas células; donde han sido encontradas diferencias en los cilios de células normales y cancerosas [28], por ejemplo. En este dominio celular, es importante considerar que existe la presencia de un recubrimiento molecular tipo “cepillo”, cuyas moléculas están sujetas a la membrana celular y a las corrugaciones de la membrana como microvellosidades [4] (Figura. 1.1). Estos cepillos están compuestos de una capa de glicocáliz y un recubrimiento molecular pericelular [29, 30] y es el lugar de la célula donde ocurren inicialmente las interacciones entre células y fenómenos como la migración celular [31, 32].



**Fig. 1.1:** Cepillo pericelular que se puede encontrar en la superficie celular.

En este sentido, se han examinado los aspectos físicos que caracterizan a las superficies de estas células cancerosas [32–35], encontrando diferencias significativas entre la respuesta mecánica de células normales y cancerosas. Además, se ha

logrado medir de forma independiente la respuesta mecánica de los cepillos que se encuentran sobre la superficie celular [4, 34], mostrando que existe una clara diferencia del comportamiento mecánico entre los cepillos de células normales y cancerosas [4]. A través de la microscopía electrónica de barrido (SEM) se ha logrado captar el recubrimiento pericelular de células epiteliales y de mama de forma *individual* [1, 29] (ver Figura 1.2).



**Fig. 1.2:** Imágenes de vista lateral obtenidas por la SEM de células individuales, de un carcinoma de mama (A) y de una célula de mama sana (B). Esta figura pertenece y se encuentra en el trabajo de Babahosseini *et al.* [1]

Existen algunos estudios de microreología que muestran el comportamiento viscoelástico de las células cancerosas [36,37]. Otros investigadores, haciendo uso de la AFM, han reportado las propiedades biomecánicas de diferentes estructuras subcelulares de células humanas de mama sanas y cancerosas, midiendo incluso la viscosidad de los subdominios de éstas [1].

El uso del análisis fractal en el área médica y biológica tiene precedentes importantes. Entre las numerosas investigaciones que existen en estos campos, encontramos estudios realizados a diferentes tipos de células humanas, los cuales demuestran que existe una correlación entre la dimensión fractal (DF) de las imágenes generadas para tales células y la salud de éstas [9, 38–45]. Específicamente, correlacionan la DF con el cáncer; encontrando valores que marcan diferencia entre la DF de una célula sana y una cancerosa. Estos resultados han sido de gran ayuda para distinguir células sanas y cancerosas, relacionar la DF con el creci-

miento tumoral, seguir la progresión del cáncer, etc.

A pesar de que existen diversos métodos para generar imágenes de este tipo de células, la AFM ha demostrado ser de gran utilidad para captar la topografía de la superficie de células epiteliales, por ejemplo [4]. A través del cálculo de la DF a este tipo de imágenes, se ha encontrado una tendencia importante que muestra que la DF de células sanas es menor que la de las cancerosas [9,40,41,45]. Aunado a la DF, el cálculo de la lagunaridad ( $\Lambda$ )\* es importante debido a que ésta puede darnos información sobre si una imagen fractal es traslacionalmente invariante [46]. Además, algunas imágenes con la misma DF pueden presentar diferentes valores de  $\Lambda$ .

En el ámbito computacional, se busca proponer modelos lo suficientemente robustos que puedan simular estos sistemas biofísicos con el fin de lograr predecir o encontrar tendencias que representen el comportamiento de las propiedades de interés. Estudios como el nuestro pueden complementar el diagnóstico de algunos tipos de cáncer, tal como el cérvico - uterino, que aún depende de la inspección visual del médico.

### 1.3. Esta tesis

Debido a la importancia que creemos que tiene el estudio de las superficies celulares para poder cualificar y/o cuantificar la salud de las células, la generación de modelos computacionales que respalden o sirvan como fuentes de ideas para las posibles explicaciones físicas que puedan tener los diversos fenómenos que ocurren en estos subdominios celulares puede tener un impacto trascendental en el campo de la medicina y biología celular. La DPD ha demostrado ser un método prometedor para simular sistemas con estructuras de tipo cepillo, ya sean cepillos poliméricos [47–52] o cepillos biológicos [53–55].

Esta tesis tiene 2 objetivos principales. Primero, proponer modelos representativos de los cepillos pericelulares que se encuentran sobre la superficie de ciertas células epiteliales humanas, basados en arreglos de cadenas lineales injertadas desde uno de sus extremos a una superficie. En el Capítulo 2, detallamos sobre el método computacional que utilizamos, como ya lo mencionamos, la DPD. Mostramos como diseñamos los modelos de los cepillos pericelulares cancerosos y sanos con base en evidencias que muestran diferencias estructurales entre estos dos [4], así como la parte de confinamiento de estos sistemas.

---

\*En la sección 4.5 se detalla el concepto de lagunaridad.

Segundo, el estudio de propiedades reológicas, termodinámicas, mecánicas y geométricas, de estos sistemas tipo cepillo, las cuales son difíciles de rastrear experimentalmente. En el Capítulo 3 mostramos el estudio de propiedades reológicas, termodinámicas y mecánicas, con el fin de contrastar el comportamiento entre los cepillos sanos y cancerosos bajo la influencia de una perturbación oscilatoria externa e interactuando con una superficie curva que simula la superficie de una punta de AFM. Mientras que en el Capítulo 4, mostramos el estudio de las propiedades geométricas mediante el análisis fractal, midiendo la DF y  $\Lambda$  de las imágenes topográficas generadas para estos cepillos.

En esta tesis proponemos una metodología para estudiar los sistemas basados en estructuras tipo cepillos, que sean perturbados por flujos oscilatorios y/o puedan ser estudiados mediante la técnica de AFM. A pesar que el enfoque que mostramos en este trabajo está orientado en modelos biofísicos, es posible que estos modelos puedan ser utilizados para estudiar sistemas que, en general, puedan modelarse con estas estructuras, por ejemplo, el diseño de recubrimientos poliméricos que funcionen como lubricantes, o el diseño de materiales funcionalizados con polímeros o lípidos.



## *II*

---

### *Dinámica de Partículas Disipativas*

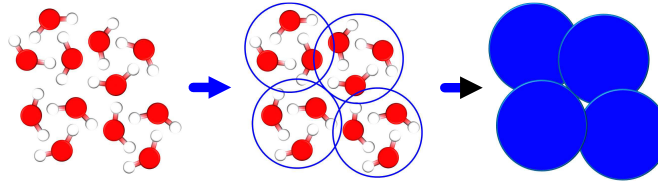
En este capítulo veremos los detalles técnicos esenciales del método de simulación de DPD tales como el modelo de fuerzas que lo constituyen, el termostato que surge de las mismas fuerzas con las que cuenta y la ecuación de estado de un sistema modelado con la DPD. También presentaremos el método de integración de las fuerzas que se utiliza comúnmente cuando uno trabaja con la DPD, entre otros detalles técnicos de los sistemas que modelamos. Entre ellos están el diseño de cadenas lineales utilizadas para construir los cepillos pericelulares, la inclusión de la pared curva que representa a la superficie de la punta del AFM y el movimiento oscilatorio externo que es implementado para generar una fuerza de corte oscilatoria para calcular las propiedades reportadas en el Capítulo 3.

## 2.1. Introducción

La DPD es un método de simulación de grano grueso que fue introducido en 1992 por P.J. Hoogerbrugge (PJH) y J. M. V. A. Koelman (JMVAK) con el fin de estudiar el comportamiento hidrodinámico de fluidos complejos, combinando ideas de la Dinámica Molecular (DM) y Autómatas de Gas Reticular [56, 57]. PJH y JMVAK demostraron que el algoritmo DPD satisfacen las ecuaciones de Navier-Stokes y que dependiendo del nivel de grano grueso en que uno trabaje, el método puede alcanzar escalas de tiempo y longitud más grandes que la DM, por ejemplo. Posteriormente, en 1995 P. Español (PE) y P. B. Warren (PBW) presentaron las ecuaciones diferenciales estocásticas del algoritmo DPD, de donde emerge el teorema de fluctuación-disipación de la DPD [58]. R. D. Groot (RDG) y K. L. Rabone (KLR) han demostrado que, en comparación con simulaciones atomísticas de DM, las simulaciones a una escala de grano grueso realizadas con el método DPD pueden llegar a ser de 4 a 5 órdenes de magnitud más eficientes [59].

En la DPD la representación del fluido se hace mediante granos o *beads* de masa  $m$  y representan una sección del fluido o un *cluster* de moléculas que conforman el sistema de interés. Para mayor claridad ver la Figura 2.1, donde se muestra cómo se conforma un bead DPD en un fluido hecho simplemente con agua. Estos beads se consideran partículas puntuales y se mueven siguiendo las ecuaciones de movimiento de Newton.

El método DPD se conforma de tres fuerzas que son fundamentales, una fuerza aleatoria, una disipativa y una conservativa. La DPD es un método de simulación versátil que nos permite modelar fluidos complejos, ya que los parámetros de interacción de la fuerza conservativa dependen de la composición química que contiene cada bead; por lo que si se desea modelar sistemas lo más realistas posible es necesario realizar un mapeo basado en la teoría de Flory-Huggins (FH) [60, 61]. Esto fue hecho por RDG y PBW en 1997, encontrando una relación entre los parámetros de interacción de la fuerza conservativa DPD y los parámetros de solubilidad de los componentes del sistema [62].



**Fig. 2.1:** Representación esquemática del mapeo DPD de un fluido simple hecho por agua. En este caso se utilizó un grado de refinamiento  $N_m = 3$ , i.e., el número de moléculas de agua que están dentro de un bead DPD (círculo azul). Figura adaptada de la Ref. [2].

## 2.2. Método DPD

### 2.2.1. Modelo de fuerzas

Como se mencionó anteriormente, la DPD consta de tres fuerzas fundamentales, necesarias y suficientes para representar al menos un fluido simple, las cuales son la fuerza aleatoria ( $\mathbf{F}_{ij}^R$ ), la fuerza disipativa ( $\mathbf{F}_{ij}^D$ ) y la fuerza conservativa ( $\mathbf{F}_{ij}^C$ ). Estas tres fuerzas actúan por pares y son fuerzas centrales que cumplen con la tercera ley de Newton, por lo que el momento total se conserva; y la fuerza total de una partícula DPD se expresa como la suma de las tres fuerzas:

$$\mathbf{f}_i = \sum_{i \neq j}^N [\mathbf{F}_{ij}^C + \mathbf{F}_{ij}^D + \mathbf{F}_{ij}^R]. \quad (2.1)$$

El primer término de la parte derecha de la ecuación 2.1 es la fuerza conservativa, la cual está dada por la siguiente ecuación:

$$\mathbf{F}_{ij}^C = \begin{cases} a_{ij} (1 - r_{ij}/r_c) \hat{\mathbf{r}}_{ij} & \text{si } r_{ij} \leq r_c \\ 0 & \text{si } r_{ij} > r_c \end{cases}, \quad (2.2)$$

donde  $r_{ij} = |\mathbf{r}|$  y  $\hat{\mathbf{r}}_{ij} = \mathbf{r}_{ij}/r_{ij}$  son la magnitud y el vector unitario del vector de la posición relativa entre las partículas  $i$  y  $j$ ,  $\mathbf{r}_{ij} = \mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j$ . El parámetro  $a_{ij}$  es el valor máximo que puede alcanzar la fuerza conservativa entre la  $i$ -ésima y  $j$ -ésima partícula, la cual es meramente repulsiva, suave y linealmente decayente dada la forma funcional que tiene; sin embargo, es importante mencionar que las partículas DPD son suaves, lo que implica que éstas pueden traslaparse aunque no por completo. El valor de  $\mathbf{F}_{ij}^C$  depende de un radio de corte,  $r_c$ , tal que si la distancia relativa entre dos partículas es mayor a  $r_c$ , el valor de  $\mathbf{F}_{ij}^C$  es cero. En la Figura 2.2 podemos ver de forma gráfica la naturaleza de la fuerza conservativa.

Cabe mencionar que en el método DPD uno puede incluir otras fuerzas conservativas como lo son las electrostáticas o fuerzas intramoleculares como las fuerzas de van der Waals [63]. Sin embargo, el método DPD ha sido diseñado con el objetivo principal de modelar sistemas a una escala mesoscópica, por lo que una descripción atomística de los sistemas sería poco trascendente en el uso del método. Está es una de las razones por la cual uno puede escoger un potencial suave y repulsivo, pues las observaciones hechas por B. M. Forrest y U. W. Suter, sugieren que las interacciones moleculares en modelos con métodos de grano grueso tienden a ser suaves una vez que son promediadas apropiadamente en el tiempo y en el espacio [64].

El segundo término de la parte derecha de la ecuación 2.1 es la fuerza disipativa, la cual está dada por la siguiente ecuación:

$$\mathbf{F}_{ij}^D = -\gamma\omega^D(r_{ij})[\hat{\mathbf{r}}_{ij} \cdot \mathbf{v}_{ij}]\hat{\mathbf{r}}_{ij} , \quad (2.3)$$

esta fuerza es directamente proporcional y en sentido opuesto a la velocidad relativa entre las partículas  $i$ -ésima y  $j$ -ésima,  $\mathbf{v}_i - \mathbf{v}_j$ , donde  $\gamma$  es el parámetro que indica el coeficiente de fricción entre dos partículas DPD y  $\omega^D$  es la función peso de  $\mathbf{F}_{ij}^D$ .

El tercer término de la parte derecha de la ecuación 2.1 es la fuerza aleatoria, la cual está asociada al movimiento browniano de las partículas y está dada por la siguiente ecuación:

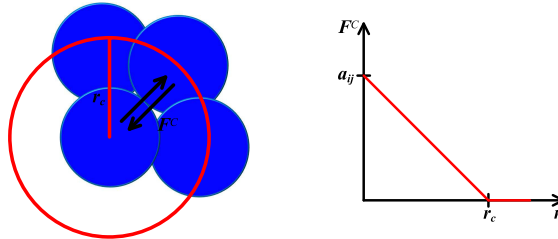
$$\mathbf{F}_{ij}^R = -\sigma\omega^R(r_{ij})\zeta_{ij}\hat{\mathbf{r}}_{ij} , \quad (2.4)$$

donde  $\sigma$  es la amplitud máxima de la fuerza aleatoria,  $\omega^R$  es la función peso de  $\mathbf{F}_{ij}^R$  y  $\zeta_{ij} = \zeta_{ji}$  es un número aleatorio, con una distribución Gaussiana con media igual a cero y varianza de uno, i.e.,

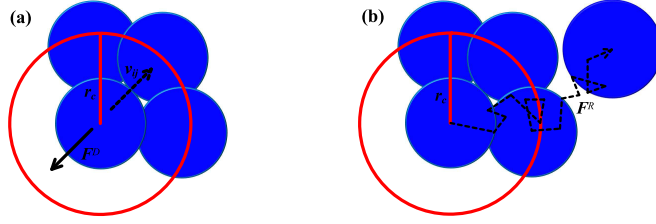
$$\langle \zeta_{ij}(t) \rangle = 0 , \quad (2.5)$$

$$\langle \zeta_{ij}(t)\zeta_{i'j'}(t) \rangle = (\delta_{ii'}\delta_{jj'} + \delta_{ij'}\delta_{ji'})\delta(t - t') . \quad (2.6)$$

Esta propiedad simétrica nos asegura que el momento total se conserva [58]. En la Figura 2.3 mostramos una representación esquemática las fuerzas disipativa y aleatoria.



**Fig. 2.2:** Representación esquemática de la interacción entre partículas DPD (a) y gráfica simplista de la fuerza conservativa  $\mathbf{F}_{ij}^C$  (b),  $a_{ij}$  es el valor máximo que alcanza  $\mathbf{F}_{ij}^C$  (ver ecuación 2.2) y  $r_c$  es el radio de corte de la fuerza. Figura adaptada de la Ref. [2].



**Fig. 2.3:** Representación esquemática de la fuerza disipativa (a) y de la fuerza aleatoria (b), definidas por las ecuaciones 2.3 y 2.4, respectivamente. Donde  $r_c$  es el radio de corte de las fuerzas. Figura adaptada de la Ref. [2].

### 2.2.2. Teorema de fluctuación-disipación en DPD

Si uno sustituye las ecuaciones de las fuerzas conservativa, disipativa y aleatoria en las ecuaciones de la segunda ley de Newton, podemos obtener las ecuaciones diferenciales estocásticas de Langevin del método DPD [58,65]:

$$d\mathbf{r}_i = \frac{\mathbf{p}_i}{m_i} dt, \quad (2.7)$$

$$d\mathbf{p}_i = \left[ \sum_{i \neq j} \mathbf{F}_{ij}^C + \sum_{i \neq j} -\gamma \omega^D(r_{ij}) [\hat{\mathbf{r}}_{ij} \cdot \mathbf{v}_{ij}] \hat{\mathbf{r}}_{ij} \right] dt + \sum_{i \neq j} \sigma \omega^R(r_{ij}) \hat{\mathbf{r}}_{ij} dW_{ij}, \quad (2.8)$$

en donde  $m_i$  es la masa de la  $i$ -ésima partícula y  $dW_{ij} = dW_{ji}$  son diferenciales infinitesimales de un proceso de Wiener de orden 1/2 [65], tal que:

$$dW_{ij} dW_{j'i'} = (\delta_{ii'} \delta_{jj'} + \delta_{ij'} \delta_{ji'}) . \quad (2.9)$$

Considerando una función de distribución  $\rho(\mathbf{r}_i, \mathbf{p}_i; t)$ , la cual nos indica la probabilidad de encontrar a nuestro sistema en algún estado del espacio fase con posiciones  $\mathbf{r}_i$  y momentos  $\mathbf{p}_i$  en un determinado tiempo  $t$ ; PE y PBW demostraron que la evolución temporal de esta distribución es gobernada por la ecuación de Fokker-Planck de la siguiente forma [58]

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = \mathcal{L}^C \rho + \mathcal{L}^D \rho, \quad (2.10)$$

donde los operadores aplicados a la función  $\rho$  quedan definidos de la siguiente manera:

$$\begin{cases} \mathcal{L}^C \equiv - \left[ \sum_i \frac{\mathbf{p}_i}{m_i} \frac{\partial}{\partial \mathbf{r}_i} + \sum_{i,j \neq i} \mathbf{F}_{ij}^C \frac{\partial}{\partial \mathbf{p}_i} \right] \\ \mathcal{L}^D \equiv \sum_{i,j \neq i} \hat{\mathbf{r}}_{ij} \frac{\partial}{\partial \mathbf{p}_i} \left[ \gamma \omega^D(\hat{\mathbf{r}}_{ij} \cdot \mathbf{v}_{ij}) + \frac{\sigma^2}{2} \omega^R \hat{\mathbf{r}}_{ij} \left( \frac{\partial}{\partial \mathbf{p}_i} - \frac{\partial}{\partial \mathbf{p}_j} \right) \right] \end{cases}, \quad (2.11)$$

en donde  $\mathcal{L}^C$  es el operador de Liouville de un sistema Hamiltoniano que interactúa con la fuerza conservativa DPD y el operador  $\mathcal{L}^D$  contiene los términos disipativos y aleatorios. Hay que notar que si uno iguala a cero los parámetros  $\gamma$  y  $\sigma$ , tendríamos que la solución a la ecuación en estado estacionario:  $\partial \rho^{eq} / \partial t = \mathcal{L}^C \rho^{eq} = 0$ , en el ensamble canónico es la distribución de Gibbs-Boltzmann

$$\rho^{eq}(\mathbf{r}_i \mathbf{p}_i) = \frac{1}{Z} \exp \left[ -\frac{\sum_{i,j \neq i} (\mathbf{p}_i^2 / 2m_i + U(r_{ij}))}{k_B T} \right], \quad (2.12)$$

donde  $k_B$  es la constante de Boltzmann,  $T$  es la temperatura de equilibrio del sistema,  $U(r_{ij})$  el potencial del cual surge la fuerza conservativa  $\mathbf{F}_{ij}^C$  y  $Z$  la función de partición de normalización. Por lo tanto, el ensamble natural de la DPD es el ensamble canónico (NVT). Así, los sistemas diseñados en este trabajo han sido estudiados bajo este ensamble. Por otro lado, para satisfacer  $\mathcal{L}^D \rho^{eq} = 0$  es necesario que se cumplan las siguientes dos ecuaciones:

$$\omega^D(r_{ij}) = [\omega^R(r_{ij})]^2 = \begin{cases} (1 - r_{ij}/r_c) & \text{si } r_{ij} \leq r_c \\ 0 & \text{si } r_{ij} > r_c \end{cases}, \quad (2.13)$$

$$k_B T = \sigma^2 / 2\gamma. \quad (2.14)$$

De las cuales emerge el teorema de fluctuación-disipación del método DPD, el cual es similar al de una dinámica Browniana convencional [58]. Con la notable diferencia que la dinámica Browniana no conserva el momento ya que no incorpora fuerzas centrales a pares.

### 2.2.3. Ecuación de estado DPD y parámetros de interacción $a_{ij}$

La forma estándar de elegir los parámetros de interacción de la fuerza conservativa, se hace de forma análoga a la teoría de perturbación de líquidos de Weeks-Chandler-Andersen [66], en donde la compresibilidad experimental de un líquido se conecta con la de un sistema DPD de la siguiente manera:

$$\kappa^{-1} = \frac{1}{n k_B T \kappa_T} = \frac{N_m}{k_B T} \left( \frac{\partial p}{\partial n} \right)_T = \frac{1}{k_B T} \left( \frac{\partial p}{\partial \rho} \right), \quad (2.15)$$

donde  $N_m$  es el grado de refinamiento,  $\rho$  es la densidad del fluido DPD,  $\kappa_T$  y  $n$  son la compresibilidad isotérmica y la densidad molecular del fluido (en este caso agua), respectivamente [59, 61]. Así que, para el agua a temperatura ambiente ( $\sim 300$  K) la compresibilidad reducida es  $\kappa_{agua}^{-1} \approx 16$ . Entonces, para obtener la correspondencia similar de

la compresibilidad del agua se necesita la ecuación de estado DPD; en donde podemos obtener la presión del sistema mediante el teorema del virial [67]:

$$p = \rho k_B T + \frac{1}{3V} \left\langle \sum_{j>i} \mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{f}_i \right\rangle, \quad (2.16)$$

donde el primer término de la parte derecha de la ecuación es la contribución de un gas ideal, mientras que el segundo término es el *exceso de presión*, ocasionado por las interacciones no ideales del fluido; siendo  $\mathbf{f}_i$  la fuerza total de una partícula DPD (ecuación 2.1). Debido a que las contribuciones promedio al virial de la fuerza disipativa y la fuerza aleatoria son cero [2], el término del virial que contribuye a la presión depende solo de las fuerzas conservativas:

$$p = \rho k_B T + \frac{1}{3V} \left\langle \sum_{j>i} \mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{F}_{ij}^C \right\rangle. \quad (2.17)$$

Haciendo uso de esta última ecuación, podemos obtener la ecuación de estado DPD:

$$p = \rho k_B T + \alpha a \rho^2, \quad (2.18)$$

la cual es una aproximación muy buena para valores de  $\rho > 2$ , siendo  $\alpha = 0.101 \pm 0001$  [61]. Para valores de  $\rho > 2$  la ecuación de estado es invariante ante la elección del parámetro  $a$ . Así, usando la ecuación 2.18 en la ecuación 2.15 tenemos que:

$$a_{ij} = \frac{(N_m \kappa^{-1} - 1) k_B T}{2\alpha \rho}, \quad (2.19)$$

tal que para partículas DPD del mismo tipo, i.e,  $i = j$ , y considerando la compresibilidad del agua en condiciones normales,  $\kappa_{agua}^{-1} \approx 16$  y un grado de refinamiento  $N_m = 3$ , el valor del parámetro de interacción entre partículas del mismo tipo es  $a_{ii} = 78.3$  [68].

La asignación de parámetros de interacción  $a_{ij}$  para partículas DPD de diferente tipo ( $i \neq j$ ) se logra mediante el cálculo de los parámetros  $\chi$  de la teoría de FH, los cuales representan el exceso de energía libre de una dilución [60]. La densidad de energía libre de la mezcla viene dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{F}{k_B T} = \frac{\phi_A}{N_A} \ln \phi_A + \frac{\phi_B}{N_B} \ln \phi_B + \chi \phi_A \phi_B, \quad (2.20)$$

donde  $\phi_A$  y  $\phi_B$  son la fracción de volumen de los compuestos A y B,  $N_A$  y  $N_B$  son el número de segmentos de los compuestos A y B, y una de las condiciones que está de forma implícita es que  $\phi_A + \phi_B = 1$ , i.e., las fracciones de volumen de los componentes llenan el espacio.

Usando la ecuación de estado DPD (ecuación 2.18), podemos obtener la densidad de energía libre para un solo componente:

$$\frac{f_V}{k_B T} = \rho \ln \rho - \rho + \frac{\alpha a \rho^2}{k_B T}; \quad (2.21)$$

mientras que para una mezcla de dos componentes se espera que

$$\frac{f_V}{k_B T} = \frac{\rho_i}{N_i} \ln \rho_i + \frac{\rho_j}{N_j} \ln \rho_j - \frac{\rho_i}{N_i} - \frac{\rho_j}{N_j} + \frac{\alpha (a_{ii} \rho_i^2 + 2a_{ij} \rho_i \rho_j + a_{jj} \rho_j^2)}{k_B T}, \quad (2.22)$$

en donde ahora  $\rho = \rho_i + \rho_j$  y  $N = N_i + N_j$ , siendo  $\rho$  la densidad total del sistema y  $N$  el número de partículas total; además, haciendo las siguientes suposiciones: 1)  $a_{ii} = a_{jj}$ , 2)  $\rho_i + \rho_j \approx \text{cte}$  y 3)  $x = \rho_i / (\rho_i + \rho_j)$ , uno encuentra que [61]

$$\chi_{ij} = \frac{2\alpha(a_{ij} - a_{ii})(\rho_i + \rho_j)}{k_B T}. \quad (2.23)$$

De este análisis, uno puede encontrar que los parámetros  $a_{ij}$  para  $i \neq j$ , se pueden obtener usando los parámetros  $\chi_{ij}$  mediante la siguiente relación [68]

$$a_{ij} = a_{ii} + 3.27 \chi_{ij}. \quad (2.24)$$

### 2.2.4. Algoritmo de integración

El algoritmo de integración originalmente utilizado para resolver las ecuaciones de movimiento de la DPD, tanto en el trabajo de PJH y JMVAK [56, 57] como en el de PE y PW [58]; fue un algoritmo tipo Euler compuesto por las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \mathbf{r}_i(t + \Delta t) &= \mathbf{r}_i(t) + \Delta t \mathbf{v}_i(t), \\ \mathbf{v}_i(t + \Delta t) &= \mathbf{v}_i(t) + \Delta t \mathbf{f}_i(t), \\ \mathbf{f}_i(t + \Delta t) &= \mathbf{f}_i(\mathbf{r}(t + \Delta t), \mathbf{v}(t + \Delta t)). \end{aligned} \quad (2.25)$$



Sin embargo, en este trabajo se ha utilizado una versión modificada y adaptada al método DPD del algoritmo de integración de velocidades de Verlet (VV) [62,63], compuesto por las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned}
 \mathbf{r}_i(t + \Delta t) &= \mathbf{r}_i(t) + \Delta t \mathbf{v}_i(t) + \frac{1}{2} \Delta t^2 \mathbf{f}_i(t) , \\
 \tilde{\mathbf{v}}(t + \Delta t) &= \mathbf{v}_i(t) + \lambda \Delta t \mathbf{f}_i(t) , \\
 \mathbf{f}_i(t + \Delta t) &= \mathbf{f}_i(\mathbf{r}(t + \Delta t), \tilde{\mathbf{v}}(t + \Delta t)) , \\
 \mathbf{v}_i(t + \Delta t) &= \mathbf{v}_i(t) + \Delta t \mathbf{f}_i(t) .
 \end{aligned} \tag{2.26}$$

Los estudios hechos por RDG y PBW sugieren que la elección de los valores de densidad y ruido de la fuerza aleatoria,  $\rho = 3$  y  $\sigma = 3$ , respectivamente, llevan a tener un valor optimo de  $\lambda = 0.65$ ; por lo que uno puede fijar el paso de tiempo hasta  $\Delta t = 0.06$  sin pérdidas significativas en la temperatura de control, mientras que para  $\rho = 3$ ,  $\sigma = 3$  y  $\lambda = 0.5$ , parámetros usados en este trabajo, el paso de tiempo puede ajustarse hasta  $\Delta t = 0.04$  [62].

### 2.2.5. Unidades reducidas de DPD

En este trabajo se han utilizado unidades reducidas características del método DPD. Aquí las unidades de longitud se reducen con  $r_c$  que es el radio de corte de las fuerzas DPD, las unidades de masa son reducidas con  $m$  que es la masa de una partícula DPD que por convención suponemos que todas las partículas DPD tienen la misma masa  $m = 1$  y la energía que se reduce con  $k_B T$ ,  $T$  en este caso es la temperatura ambiente tal que  $k_B T = 1$ .

El valor de  $r_c$  depende del grado de refinamiento  $N_m$  y de la densidad global del sistema  $\rho$ . En donde  $\rho = N/V$ , siendo  $N$  el número total de partículas DPD del sistema y  $V$  el volumen del sistema en unidades de  $r_c^3$ ; tal que  $N/V = 1/v$ , donde  $v$  es el volumen de una partícula DPD de agua por ejemplo, en unidades de longitud reducidas DPD. Entonces, siendo  $v'$  el volumen de una molécula de agua en  $\text{\AA}^3$  ( $v' = 30 \text{\AA}^3$ ), tenemos que [69]

$$r_c^3 = N_m \frac{v'}{v} = N_m v' \rho . \tag{2.27}$$

En este trabajo hemos considerando un grado de refinamiento  $N_m = 3$  y una densidad reducida es de  $\rho = 3$ ; por lo tanto tenemos que  $r_c = 6.46 \text{\AA}$ .

Las unidades de tiempo se reducen con  $\tau$ , dada por la siguiente ecuación:

$$\tau = \sqrt{mr_c^2/k_BT}, \quad (2.28)$$

en donde  $m \approx 9 \times 10^{-23} g$  es la masa de una partícula DPD de agua con  $N_m = 3$ ; y considerando que  $r_c = 6.46 \text{ \AA}$  a temperatura ambiente, tenemos que  $\tau \approx 3 ps$ .

A lo largo de este trabajo usaremos la mayoría de las variables y constantes en términos de unidades reducidas DPD, por lo que es importante dar a conocer las dimensiones de cada una de éstas, las cuales mostramos en la Tabla 2.1.

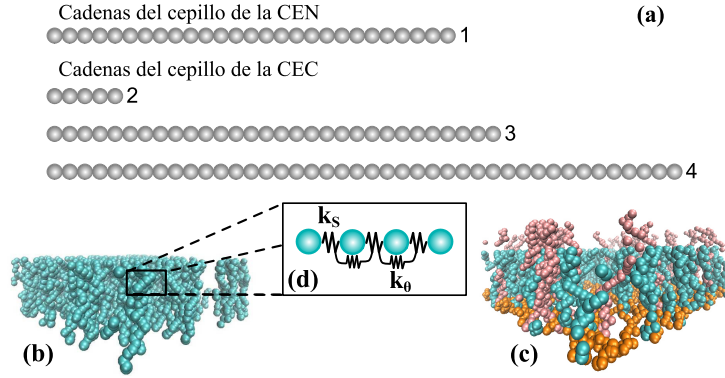
**Tabla 2.1:** Nomenclatura y dimensiones de las variables y parámetros en este trabajo

Cantidad	Descripción	Dimensión
$k_s$	Constante de la fuerza armónica lineal entre dos cuerpos	$k_BT/r_c$
$k_\theta$	Constante de la fuerza armónica angular entre tres cuerpos	$k_BT/r_c^2$
$\eta$	Viscosidad	$k_BT\Delta t/r_c^3$
$\gamma$	Tensión interfacial	$k_BT/r_c^2$
$\langle h \rangle$	Grosor promedio del cepillo	$r_c$
$A$	Amplitud del movimiento oscilatorio externo	$r_c$
$\omega$	Frecuencia del movimiento oscilatorio externo	$1/\Delta t$

### 2.3. Diseño de los cepillos pericelulares

En esta sección se describe el procedimiento a través del cual fueron diseñados los sistemas de cepillos pericelulares. Hemos modelado dos tipos de cepillos con el fin de representar dos tipos de sistemas celulares; por un lado tenemos los cepillos que representan el recubrimiento de células epiteliales normales (CENs) y por el otro tenemos los que representan a las células epiteliales cancerosas (CECs). La inspiración de estos modelos surge de datos proporcionados por estudios físico-mecánicos de AFM de células epiteliales [4, 34], los cuales han mostrado que el comportamiento mecánico de la célula depende de la composición de estos cepillos pericelulares.

En la Figura 2.4 mostramos el diseño de las cadenas que conforman los arreglos de los dos tipos de cepillos que hemos modelado. El cepillo de las CENs está compuesto por un arreglo de cadenas de una longitud uniforme; cada cadena de este arreglo está compuesta por 27 partículas DPD ( $N_1 = 27$ , cadena 1 en la Figura 2.4(a)). El cepillo de las CECs está compuesto por tres arreglos de cadenas que tienen diferentes longitudes; cada cadena de los tres diferentes arreglos está compuesta por  $N_2 = 5$ ,  $N_3 = 30$  y  $N_4 = 42$  partículas DPD (los subíndices hacen referencia al número de cadena que se ve en la Figura 2.4).



**Fig. 2.4:** En la Figura (a) mostramos una representación gráfica de la estructura de las cadenas que conforman a los cepillos CENs (cadena 1) y CECs (cadenas 2, 3 y 4). En la Figura (b) y (c), mostramos el modelo del cepillo de la CEN y de la CEC, respectivamente, y en la (d) los enlaces entre dos y tres cuerpos. En donde  $k_s$  y  $k_\theta$  son las constantes de las fuerzas que representan los enlaces entre dos y tres cuerpos, respectivamente (ver ecuaciones 2.27 y 2.28).

En el método DPD, uno puede diseñar arreglos moleculares con una estructura más compleja al igual que en una DM; que van desde cadenas de polímeros lineales, hasta proteínas; e inclusive uno puede diseñar sistemas con cargas eléctricas. En este trabajo diseñamos cadenas lineales sin carga eléctrica, usando un potencial de Hooke para describir la interacción entre dos cuerpos:

$$\mathbf{F}_{enlace} = -k_s (r_{ij} - r_0) \hat{\mathbf{r}}_{ij} , \quad (2.29)$$

y un potencial armónico para describir la interacción entre enlaces consecutivos:

$$F_{angular} = -k_\theta \sin(\theta_0 - \theta_{ijk}) , \quad (2.30)$$

en donde  $k_s$  y  $k_\theta$  son las constantes de las fuerzas, siendo  $k_\theta$  la constante que se encarga de controlar la rigidez de las cadenas;  $r_0$  y  $\theta_0$  son la distancia de relajación de los enlaces y el ángulo de equilibrio entre los enlaces  $\hat{i}\hat{j}$  y  $\hat{j}\hat{k}$ , respectivamente. Estos dos potenciales armónicos (2.29) y (2.30), al ser conservativos, se suman a la fuerza conservativa DPD. Como resultado tendremos que el operador de Louville ( $\mathcal{L}^C$  en la ecuación 2.11) tendrá un par de términos más, lo cual no altera el termostato de la DPD. La función de estas dos fuerzas que actúan en conjunto es, mantener la integridad de las cadenas ( $F_{enlace}$ ) y proporcionar flexibilidad a dichas cadenas ( $F_{angular}$ ).

Los cepillos fueron diseñados de tal manera que unos de los extremos de la cadena es fijado en una de las caras de la caja de simulación (en este caso se escogió  $z = 0$ ); tal

que, para los cepillos de las CENs (Figura 2.4(b)) la densidad superficial de injertos de las cadenas es de  $\Gamma_1 = 0.325$  cadenas por unidad de área. Y para los cepillos de las CECs (Figura 2.4(c)), la densidad superficial de injertos de cada uno de los tres arreglos que componen al cepillo es de  $\Gamma_2 = 0.735$ ,  $\Gamma_3 = 0.205$  y  $\Gamma_4 = 0.0825$  cadenas por unidad de área (los subíndices se refieren a las cadenas 2, 3 y 4 de la Figura 2.4(a)). En el caso de las CENs, también diseñamos el cepillo con una densidad de injertos igual a la de los cepillos de las CECs, es decir  $\Gamma_1 = 1.0225$  cadenas por unidad de área; sin embargo, cabe aclarar que los datos experimentales sustentan que en promedio, la densidad de injertos entre cepillos de células epiteliales del mismo tejido (en el caso de la Ref. [4], de una célula epitelial cervical humana) es menor cuando se trata de una célula sana. Las cabezas de las cadenas fueron colocadas sobre la superficie de forma aleatoria.

Hemos diseñado dos tipos de cepillos que denominamos *suaves* y *rígidos*, debido a que la constante que controla la rigidez de las cadenas de los cepillos ( $k_\theta$ ) difiere entre estos dos; la constante de la fuerza de enlace ( $k_s$ ) se ha dejado constante para todos los sistemas que hemos diseñado, así como los valores de  $r_0$  y  $\theta_0$ . En la tabla 2.2 mostramos el valor de las constantes de las fuerzas para cada tipo de cepillo.

**Tabla 2.2:** Valor de las constantes que aparecen en las fuerzas de enlace y angular (Ecuaciones 2.27 y 2.28) en unidades reducidas DPD.

	$k_\theta$	$k_s$	$\theta_0$	$r_0$
Cepillos <i>suaves</i>	10	100	$180^\circ$	0.7
Cepillos <i>rígidos</i>	100	100	$180^\circ$	0.7

Ambos tipos de modelos de cepillos han sido usados en trabajos previos [53, 55]. En el Capítulo 3 se hace un estudio comparativo de las propiedades mecánicas y reológicas entre estos tipos de cepillos para los sistemas de CENs y CECs; mientras en el Capítulo 4 el estudio se hace igualmente para ambos tipos de cepillos, pero se estudia la dimensión fractal y la lagunaridad de las imágenes topográficas de los sistemas.

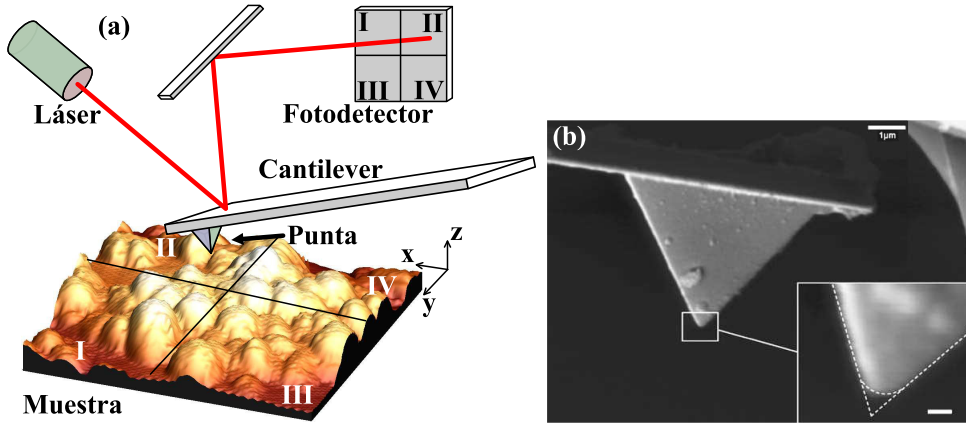
## 2.4. Confinamiento de los cepillos

Como hemos mencionado anteriormente, los cepillos que hemos modelado para este trabajo han sido injertados en un plano  $xy$  localizado en  $z = 0$ ; este plano representaría la superficie de la célula sobre la cual las vellosidades coexisten junto con los componentes de la membrana superficial, la cual hemos considerado está implícita, i.e., no está compuesta por partículas DPD. Sin embargo, las interacciones que tendrían los componentes de la membrana con el sistema se integran en una única fuerza efectiva de interacción, la cual es representada por la siguiente ecuación:

$$\mathbf{F}_{wall} = \begin{cases} a_{iw} (1 - z_{iw}/z_c) \hat{z}_{iw} & \text{si } z_{iw} \leq z_c \\ 0 & \text{si } z_{iw} > z_c \end{cases}, \quad (2.31)$$

donde  $a_{iw}$  es la constante que indica la fuerza de interacción entre la  $i$ -ésima partícula DPD y la pared,  $z_{iw}$ ,  $z_c$  y  $\hat{z}_{iw}$  son la distancia de separación en la dirección  $z$  entre la  $i$ -ésima partícula DPD y la pared, la distancia de corte de la fuerza y el vector unitario de la fuerza, respectivamente. Esta fuerza llamada fuerza de paredes DPD es una fuerza linealmente decaiente, unidireccional, repulsiva y utilizada para modelar superficies suaves [70].

Debido a que el objetivo siempre es asemejar los modelos a los sistemas experimentales, en este caso es necesario la inclusión de una superficie con radio de curvatura  $R$  que represente a la superficie de la punta del AFM. En la Figura 2.5 mostramos una descripción gráfica de la técnica de AFM, la cual consiste básicamente en una sonda o punta que va “tocando” la muestra de interés mientras un haz de luz incide sobre el cantilever y es reflejado hacia un fotodetector que capta la señal. Una de las razones por las cuales incluimos dicha superficie curva para asemejar la punta del AFM, es que se sabe que la sonda del AFM puede tener geometrías de cono [71, 72] o pirámide embotados [3], cuya punta tiene un radio de curvatura nanométrico. Otra es que el comportamiento mecánico de fluidos confinados por paredes explícitas, modelados con DPD, depende de la geometría de las paredes [73].



**Fig. 2.5:** (a) Imagen simplista del funcionamiento del AFM. (b) Imagen de una punta de AFM realizada con un microscopio electrónico de barrido. El recuadro muestra la ampliación de la punta, donde se puede apreciar una geometría piramidal embotada con un cierto radio de curvatura. La barra de escala dentro del recuadro blanco es de 100 nm. La imagen (b) pertenece al trabajo de F. Rico *et al.* [3].

Siendo así, incluimos una superficie curva que está conformada por partículas DPD, la cual interactúa con las demás partículas DPD del sistema mediante la fuerza conservativa DPD ( $\mathbf{F}^C$ ). Esta superficie se mantiene fija durante la simulación debido a que se considera un sólido y la distancia mínima entre la superficie de la célula y la punta del AFM se fijó en  $d = 10 r_c$ . En las subsecciones de detalles computacionales de cada capítulo (3.2.1, 3.3.1 y 4.3) se encuentra información técnica, específica de los sistemas utilizados. También es importante recordar que en todos los sistemas modelados la densidad total reducida es  $\rho = 3$ , por lo que el número de partículas DPD de solvente se ajustó para cumplir esta condición (ver tabla 3.1 para más detalles).

En la tabla 2.3 mostramos los parámetros de interacción usados en este trabajo entre las diferentes especies de partículas DPD, para la fuerza conservativa DPD (ecuación 2.2) y la fuerza efectiva de la pared DPD (ecuación 2.31).

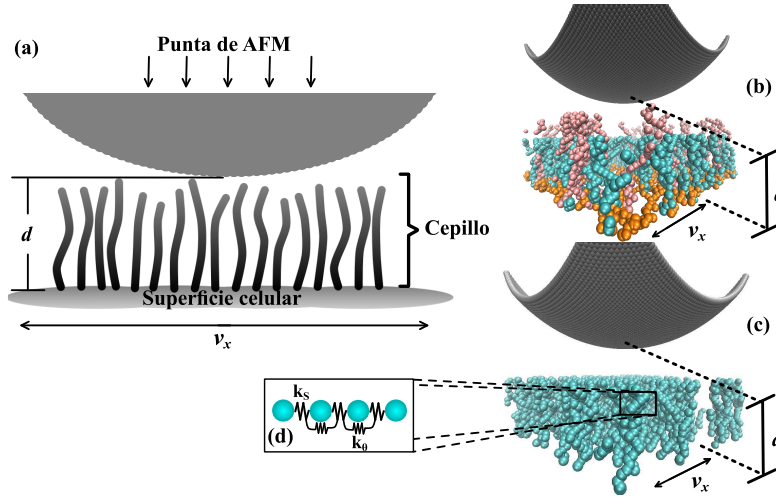
**Tabla 2.3:** Tabla de los parámetros de interacción que corresponden a la fuerza conservativa DPD y a la fuerza entre la superficie de la célula y las partículas DPD del sistema, en unidades reducidas DPD. **S** = Solvente, **H** = Cabeza de la cadena, **T** = Cola de la cadena, **AFM** = Superficie de la punta del AFM y **C** = Superficie de la célula.

$a_{ij}$	<b>S</b>	<b>H</b>	<b>T</b>	<b>AFM</b>	<b>C</b>
<b>S</b>	78	79.3	79.3	140	100
<b>H</b>	79.3	78	78	140	60
<b>T</b>	79.3	78	78	140	100
<b>AFM</b>	140	140	140	78	0*
<b>C</b>	100	60	100	0*	0**

\*debido a que la distancia es entre las partículas DPD de la punta del AFM y la superficie de la célula es mayor que la distancia de corte; \*\*debido a que es una superficie efectiva

La elección de los parámetros de las fuerzas fue hecha por convención, y con base en estudios previos de modelos de sistemas biológicos mediante DPD [53]; pues si bien no estamos reproduciendo exactamente la composición química del glicocáliz de las CEs, nuestra sugerencia es que si uno compara la respuesta mecánica entre células sanas y cancerosas del mismo tejido, las diferencias emergen de la composición estructural que diferencia a una célula sana de una cancerosa. En la Figura 2.6 mostramos un ejemplo de la configuración inicial de los cepillos confinados con la punta del AFM, tanto de las CECs como de las CENs (Figura 2.6(b) y 2.6(c), respectivamente).

Por último, y con el fin de generar una fuerza de corte oscilatoria que afecte a los cepillos confinados por la punta del AFM, hemos implementado un movimiento oscilatorio sobre la superficie celular que producirá tal fuerza de corte. De esta forma podemos medir las propiedades reológicas y la respuesta mecánica de los cepillos pericelulares, ya que se ha demostrado que en simulaciones de cepillos poliméricos existe una dependencia de las



**Fig. 2.6:** Representación esquemática del set experimental propuesto (a) y representación de los cepillos de CECs (b) y CENs (c) confinados por la superficie curva (beads grises) que representa la punta del AFM situada a una distancia  $d$  de la superficie de la célula que se mantiene fija durante el tiempo de simulación;  $v_x$  es la velocidad con la que se mueve la superficie de la célula. Las constantes  $k_s$  y  $k_\theta$  son las constantes de las fuerzas entre dos y tres cuerpos, respectivamente (ver sección 2.3).

propiedades mecánicas y tribológicas a la fuerza de corte oscilatoria [8].

El movimiento oscilatorio que mencionamos se ejerce en la dirección  $x$  del sistema sobre las partículas de las cadenas injertadas a la superficie celular en  $z = 0$ ; de tal modo que, la velocidad en la dirección  $x$  ( $v_x$ ) con la que movemos dichas partículas está dada por la siguiente ecuación:

$$\mathbf{v}_x(\Delta t) = A \cos(\omega \Delta t) \hat{\mathbf{x}} \quad (2.32)$$

en donde  $A$  y  $\omega$  son la amplitud y la frecuencia de esta velocidad, respectivamente;  $\Delta t$  es el paso del tiempo de la simulación y  $\hat{\mathbf{x}}$  es el vector direccional unitario de la velocidad.

### *III*

---

## *Propiedades Reológicas*

En este capítulo presentamos un estudio sobre las propiedades mecánicas y reológicas de modelos de cepillos pericelulares de células epiteliales cancerosas y normales cuando interactúan con una punta de AFM mientras los cepillos están bajo la influencia de un movimiento oscilatorio, mediante simulaciones computacionales de grano grueso. Hemos modelado dos tipos de cepillos: aquellos que recubren a la célula normal como un arreglo de cadenas monoméricas lineales con una longitud característica y aquellos que recubren a una célula cancerosa con el mismo tipo de cadenas pero con diferentes longitudes. Las cadenas han sido diseñadas con dos valores de rigidez. Mostramos propiedades como la viscosidad, el coeficiente de fricción, la tensión interfacial, entre otras, en forma de perfiles a lo largo de la dirección de confinamiento del sistema. También reportamos como el grosor promedio de los cepillos varía con la amplitud y frecuencia del movimiento oscilatorio externo.



### 3.1. Introducción

Como parte de los esfuerzos de entender mejor la naturaleza del cáncer, se han realizado estudios sobre propiedades mecánicas [22,23,74,75], viscoelásticas [76,77], ópticas [78] y reológicas [79–81], para encontrar diferencias cualitativas y cuantitativas entre células sanas y células cancerosas, y con el fin de comprender mejor los mecanismos de metástasis involucrados. Técnicas como la AFM, las pinzas ópticas, y la microreología de seguimiento láser, por mencionar algunas, han demostrado ser útiles para el estudio de este tipo de sistemas [24,80,82,83]. En particular, la técnica de AFM ha sido implementada en la caracterización de este tipo de células, permitiendo mediciones en tiempo real de procesos mecánicos y fisiológicos de estos sistemas biofísicos. Estudios realizados por diversos grupos han demostrado que las células cancerosas de diferentes tipos de tejidos son más suaves que sus contrapartes sanas [25–27,84–86]; además, se ha reportado que la respuesta mecánica de las células cancerosas depende del tipo de tejido al cual pertenecen [87].

En décadas recientes se ha reportado que los cepillos que recubren a las células juegan un papel muy importante en el comportamiento mecánico de éstas [4,34,88]. A través de la SEM se ha podido generar imágenes que muestran estos cepillos pericelulares [29], mientras que la técnica de AFM ha conseguido ser de utilidad en el estudio de cepillos pericelulares de células epiteliales cervicales humanas, pues los resultados muestran que existen diferencias en la respuesta mecánica entre los cepillos de células epiteliales normales y cancerosas (CENs y CECs, respectivamente) [4,34]. Otra de las diferencias entre los cepillos pericelulares de las células epiteliales, es la conformación de dichos cepillos, pues se sabe que los cepillos de CENs poseen un arreglo de vellosidades con aproximadamente una única longitud característica, mientras que los cepillos de CECs poseen un arreglo de vellosidades con al menos dos longitudes características [34].

En el contexto computacional, el método conocido como DPD ha sido ampliamente usado en el estudio de modelos de cepillos poliméricos [47–52], así como de cepillos biológicos [53–55]; en estos últimos, los resultados obtenidos demuestran que la rigidez de las vellosidades que conforman al cepillo generan un efecto colectivo que impacta de manera directa a la rigidez del cepillo como un todo [54].

En este capítulo, presentamos resultados de simulaciones mediante el método de DPD, de modelos de cepillos pericelulares de CEs bajo la influencia de un movimiento oscilatorio. Este trabajo contiene dos aspectos clave que lo vuelven novedoso; el primero es que los cepillos se han confinado mediante una superficie curva explícita que representa la superficie de una punta de AFM, lo cual puede ser de utilidad para aquellos que realizan estudios de sistemas similares usando puntas de AFM a nanoescala, pues se ha encontrado que la respuesta mecánica de fluidos confinados depende de la geometría de las paredes que confinan dicho fluido [73]. El segundo aspecto es la inclusión de un flujo

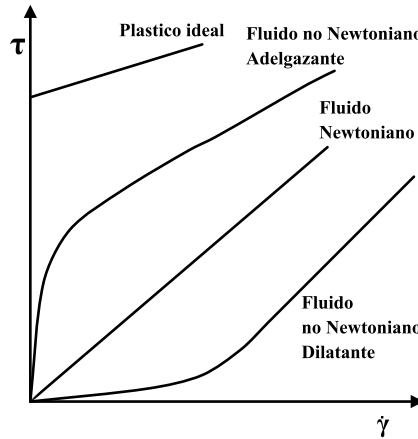
oscilatorio externo que actúa sobre el cepillo de la CE; esta idea ha sido inspirada en estudios experimentales de cepillos poliméricos, en donde las fuerzas de fricción del sistema varían con la amplitud y la frecuencia del movimiento oscilatorio externo [89, 90].

Realizamos un estudio de propiedades mecánicas tales como la fuerza y la tensión interfacial entre el solvente y el cepillo, así como de propiedades reológicas tales como la viscosidad y el coeficiente de fricción; estas propiedades se reportan en forma de perfiles a lo largo de la dirección de confinamiento, con el fin de describir y dar una mejor interpretación física de lo que ocurre localmente en el sistema. El objetivo es mostrar que mediante esta metodología se puede ganar conocimiento sobre el comportamiento reológico y mecánico de estos sistemas biofísicos.

Tratar el tema de reología implica establecer relaciones entre la fuerza y la deformación de sistemas fluidos. Una de las relaciones más simples para fluidos líquidos es la ley de viscosidad de Newton, dada por la siguiente ecuación [91]

$$\eta \equiv \frac{\tau}{\dot{\gamma}}, \quad (3.1)$$

en donde  $\tau$  es el esfuerzo al cual el fluido es sometido y que no es más que la fuerza por unidad de área,  $\dot{\gamma}$  es la velocidad de deformación  $\dot{\gamma} = dv/dt$ , y  $\eta$  es la viscosidad Newtoniana. En la Figura 3.1 se muestra un diagrama del comportamiento del esfuerzo como función la velocidad de deformación.



**Fig. 3.1:** Gráfica convencional sobre las tendencias del esfuerzo  $\tau$  en función de la velocidad de deformación  $\dot{\gamma} = dv/dt$  de materiales viscosos. La pendiente de cada línea varía entre materiales.

Algunos fluidos como el aire, el agua y algunos aceites obedecen la ley de viscosidad de Newton, por lo que son llamados fluidos Newtonianos, en donde la ecuación constitutiva es

$$\tau = \mu \dot{\gamma} . \quad (3.2)$$

Si se sustituye esta ecuación en la ecuación de la viscosidad, se obtiene que la viscosidad  $\eta$  es igual a la constante  $\mu$ . Algunos otros fluidos como la sangre, líquidos poliméricos, pinturas, etc., se dividen en fluidos no Newtonianos adelgazantes o dilatantes; para estos fluidos la ecuación constitutiva que los describe está dada por un modelo de ley de potencias de la forma:

$$\tau = k \dot{\gamma}^n , \quad (3.3)$$

donde  $k$  es una constante de proporcionalidad y  $n$  es una constante que define si el fluido no Newtoniano es adelgazante ( $n < 1$ ) o dilatante ( $n > 1$ ), de forma tal que al sustituir en la ecuación de la viscosidad 3.1 tenemos que para fluidos no Newtonianos la viscosidad depende de la velocidad de deformación de la siguiente manera:

$$\eta = k \dot{\gamma}^{n-1} . \quad (3.4)$$

### 3.2. Diferencias entre CENs y CECs

En esta sección analizaremos los resultados de las simulaciones de cepillos de CECs y CENs, comparando sus propiedades reológicas y mecánicas con el fin de encontrar diferencias cualitativas entre los dos tipos de cepillos.

#### 3.2.1. Detalles computacionales

Los sistemas modelados en este capítulo son de dos distintos tipos: sistemas de cepillos *libres* y sistemas de cepillos *confinados*.

Los sistemas de cepillos *libres* son sistemas que contienen las cadenas que conforman al cepillo injertadas en el plano  $xy$  localizado en  $z = 0$ , y al solvente distribuido por todo el sistema. A pesar de que técnicamente están confinados por una fuerza efectiva igual pero en sentido contrario a la ecuación 2.31, donde la condición de periodicidad en el eje  $z$  no existe, el término *libre* se refiere a que el tamaño de la caja de simulación en la dirección  $z$  es mayor que la longitud de las cadenas cuando todas las partículas DPD que conforman una cadena son colineales. Estos sistemas fueron modelados con el fin de obtener el grosor promedio del cepillo  $\langle h \rangle$  cuando no está influenciado por la fuerza oscilatoria externa y no está confinado por la punta del AFM, para tener un parámetro de normalización sobre los sistemas de cepillos cuando estén bajo la influencia de la fuerza

oscilatoria externa y confinados por la punta del AFM. Por otra parte, en los sistemas de cepillos *confinados* existe una pared curva explícita, i.e., una pared hecha con partículas DPD, con un radio de curvatura de  $R = 0.8 l_x$  con su centro geométrico localizado en el plano  $xy$  en  $z = l_z$ .

En todos los sistemas modelados se implementaron condiciones de periodicidad en las direcciones  $x$  y  $y$ , mientras que la dirección  $z$  carece de esta condición debido a que es la dirección del confinamiento. En el caso de los sistemas de cepillos *libres* las dimensiones de la caja de simulación son  $l_x = l_y = 20 r_c$  para los modelos de CECs y CENs, lo que significa que la superficie representa una sección de  $14 \times 14 \text{ nm}^2$ , mientras que  $l_z = 30 r_c$  ( $\approx 21 \text{ nm}$ ) para los sistemas de CECs y  $l_z = 25 r_c$  ( $\approx 17.5 \text{ nm}$ ) para los sistemas de CENs. En los sistemas de cepillos *confinados*  $l_x = l_y = 20 r_c$  y  $l_z = 26 r_c$  ( $\approx 18.2 \text{ nm}$ ), tanto para sistemas de CECs como para CENs. En la tabla 3.1 mostramos el volumen ( $V$ ), el número de partículas de solvente y el número de partículas de cepillos que hay en cada sistema diseñado para este capítulo.

**Tabla 3.1:** Tabla que contiene el volumen efectivo que hay en cada sistema ( $V$ ) así como el número de partículas DPD ( $N$ ) de cada especie. Los subíndices  $s$  y  $c$  corresponden a las especies moleculares de solvente y cepillo, respectivamente.

Sistema	Cepillos <i>libres</i>			Cepillos <i>confinados</i>		
	$V [r_c^3]$	$N_s$	$N_c$	$V [r_c^3]$	$N_s$	$N_c$
CECs $\Gamma_1$	12000	30684	5316	4933.77	9486	5316
CENs $\Gamma_2$	10000	26490	3510	4933.77	11292	3510
CENs $\Gamma_1$	10000	18957	11043	4933.77	3759	11043

En ambos tipos de sistemas de cepillos, usamos dos valores para la constante de fuerza angular de las cadenas (ecuación 2.30),  $k_\theta = 100 k_B T / r_c$  y  $k_\theta = 10 k_B T / r_c$ . Escogimos estos dos valores para tener dos tipos de cadenas físicamente contrastantes, una mucho más “flexible” que otra, pues en algunos trabajos donde modelan bicapas lipídicas con el método DPD utilizan valores para  $k_\theta$  del orden de  $10^1$  [92, 93]. Por otra parte, el valor de la constante de la fuerza Hookeana (ecuación 2.29) fue fijada en  $k_s = 100 k_B T / r_c^2$ , valor que ya ha sido probado con anterioridad en modelos de cepillos poliméricos con el método DPD [53, 94]. El estudio de los sistemas de cepillos *libres* se hizo con la ausencia del movimiento oscilatorio en la superficie de la célula. La tabla 3.2 muestra los parámetros del movimiento oscilatorio aplicado en la superficie de los sistemas de cepillos *confinados*.

Todas las corridas realizadas para este capítulo fueron hechas en dos etapas, la etapa de termalización y la etapa de producción. En la etapa de termalización el sistema inicial alcanza el equilibrio térmico; para los casos de sistemas de cepillos *confinados* y *perturbados*, en esta etapa el movimiento oscilatorio externo no se aplica sobre la superficie

celular, pues el objetivo es que sea aplicado sobre un sistema en equilibrio térmico. La etapa de termalización se lleva a cabo durante 5 bloques de  $10^4$  pasos de tiempo DPD de  $\Delta t = 0.01$ , que en unidades reales es  $\approx 1.5$  ns.

**Tabla 3.2:** Tabla de parámetros para los sistemas de cepillos *confinados*. Donde  $A$  es la amplitud y  $\omega$  es la frecuencia de la fuerza oscilatoria aplicada a los cepillos y  $k_\theta$  es el valor de la constante de la fuerza angular de las cadenas. Las cantidades están en representadas en unidades reducidas DPD.

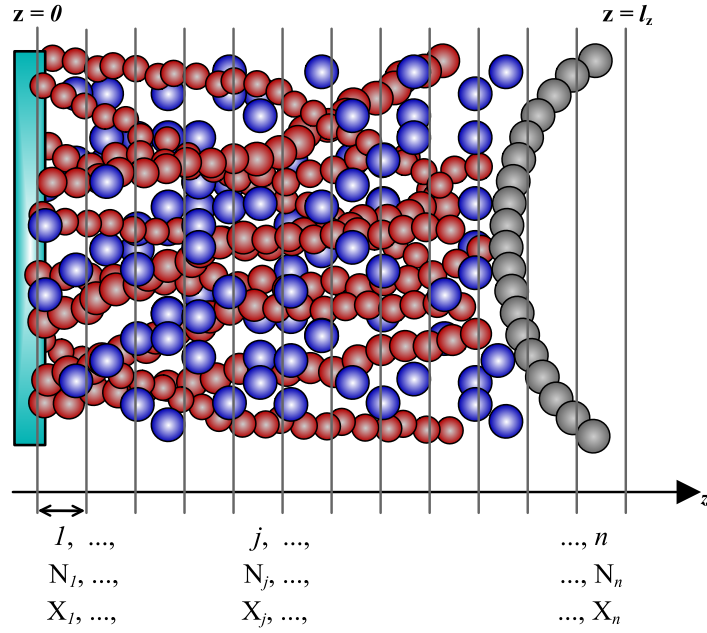
Células cancerosas				Células normales			
Sistema	$k_\theta$	$A$	$\omega$	Sistema	$k_\theta$	$A$	$\omega$
1	100	0	0	5	100	0	0
2	100	2	$\pi/100$	6	100	2	$\pi/100$
3	10	0	0	7	10	0	0
4	10	2	$\pi/100$	8	10	2	$\pi/100$

Una vez que el sistema alcanza el equilibrio térmico, la siguiente etapa es la de producción, en la cual se recolecta información para obtener los promedios temporales de todas las propiedades de interés. En el caso de los sistemas de cepillos *confinados* y *perturbados*, es en esta etapa en la que el movimiento oscilatorio es aplicado sobre la superficie celular. El tiempo de simulación de la etapa de producción consta de 15 bloques de  $10^4$  pasos de tiempo DPD de  $\Delta t = 0.03$  ( $\approx 4.5$  ns).

Con el fin de obtener información detallada del sistema sobre las propiedades de interés, hemos optado por generar perfiles de las propiedades a lo largo de la dirección  $z$  del sistema, pues resulta de gran ayuda para saber el comportamiento de las propiedades físicas de manera local. En algunos casos reportamos los perfiles normalizando la dirección de confinamiento con el grosor promedio del cepillo  $\langle h \rangle$ , lo cual nos podría permitir hacer comparaciones directas con experimentos (ver Figura 9 en la Ref. [95]). El proceso que seguimos para generar los perfiles se ilustra en la Figura 3.2 y fue el siguiente. Primeramente, el sistema es dividido en  $n$  rebanadas a lo largo de la dirección  $z$  que va desde 0 hasta  $l_z$ , cada una con un tamaño  $\Delta z$ , siendo  $\Delta z = 0.05 r_c$  el valor utilizado en este trabajo y, donde  $l_z$  varía para cada sistema. Así, el número de rebanadas por sistema es  $n = l_z / \Delta z$ .

En segundo lugar, contabilizamos el número de partículas DPD ( $N$ ) por especie (ver tabla 2.3 para los diferentes tipos de especies que se consideran en las simulaciones) y por cada rebanada  $\Delta z$  existente a lo largo de la dirección  $z$ .

En tercer lugar, calculamos las contribuciones de cada partícula DPD a la propiedad de interés  $\chi$  a cada rebanada y dividimos sobre  $N$ , como se muestra en la siguiente ecuación



**Fig. 3.2:** Bosquejo que muestra la forma en que se generan los perfiles de las propiedades, donde  $\Delta z$  es el tamaño de las rebanadas a lo largo de la dirección donde se genera el perfil,  $N$  es el número de partículas DPD que hay en cada rebanada y  $X$  puede ser cualquier variable que se quiera medir en el sistema, como densidad, algún componente de la fuerza o velocidad, etc.

$$X_j = \left\langle \left[ \sum_{i=1}^{N_j} \chi_i \right] / N_j \right\rangle ; \forall j \in [1, n] . \quad (3.5)$$

En la ecuación 3.5,  $\chi$  puede ser alguna de las propiedades que se quiera estudiar: densidad, velocidad, etc. El subíndice  $i$  hace referencia a la  $i$ -ésima partícula DPD, el subíndice  $j$  hace referencia al número de rebanada, y  $n$  es el número de rebanadas totales que hay en el sistema. Por último, promediamos sobre el tiempo de simulación, que es lo que indican los corchetes angulares en la parte derecha de la igualdad de la ecuación 3.5.

### 3.2.2. Perfiles de densidad y grosor promedio de los cepillos $\langle h \rangle$

Empezaremos por el análisis de los perfiles de densidad de los sistemas de cepillos *libres*, los cuales mostramos en la Figura 3.3. Una de las principales características que muestran estos perfiles de densidad, como los que se mostrarán más adelante para sistemas de cepillos *confinados*, es que cerca de la superficie de la célula ( $z = 0$ ) y de la pared

de confinamiento superior ( $z = l_z$ ) se puede identificar un arreglo estructural mostrado por oscilaciones [96], en donde la distancia entre máximos de las curvas mostradas en las Figuras 3.3(a), 3.3(b) y 3.3(c) es de  $\approx 0.7 z$ . En el caso de los cepillos de CECs rígidos podemos observar los tres arreglos de diferente longitud que componen al cepillo, mostrados como decaimientos suaves en la curva continua azul que representa al perfil de concentración del cepillo en la Figura 3.3(c).

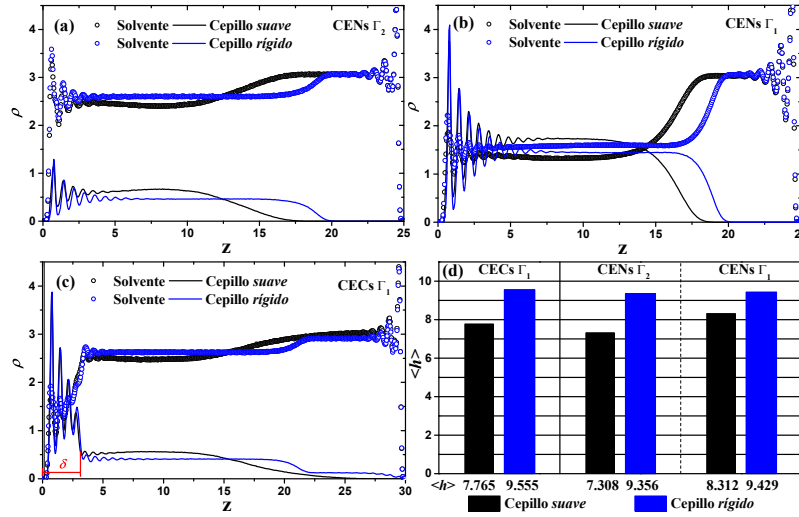
Podemos observar cómo el cepillo de las CENs permite que el solvente penetre de una manera más fácil que en el caso de los cepillos de CECs. Ésto lo podemos ver reflejado en el perfil del solvente (círculos de la Figura 3.3); siguiendo los perfiles del solvente en dirección a la superficie de la célula, podemos ver que en el caso de las CENs los perfiles permanecen constantes hasta que comienzan a mostrar las oscilaciones debidas a la fuerza efectiva que representa la superficie celular; mientras que los perfiles del solvente de los sistemas de CECs comienzan a decaer justo donde el arreglo de cadenas más cortas del cepillo termina, en  $\delta \approx 3.15 r_c$  (ver Figura 3.3(c)). Es importante notar que este comportamiento es independiente de la rigidez de las cadenas que componen al cepillo pericelular debido a que las cadenas más cortas del cepillo son las suficientemente pequeñas y las fluctuaciones térmicas del sistema predominan sobre la longitud de persistencia de éstas. El incremento en la densidad de injertos de los cepillos de las CENs muestra los mismos patrones estructurales cerca de la superficie celular, aunque en este caso la magnitud de los picos es mayor como consecuencia de la alta densidad global de los cepillos.

Hemos calculado el grosor promedio  $\langle h \rangle$  de los cepillos en *reposo*, siendo éste mayor para los cepillos rígidos (Figura 3.3(d)). La forma en que calculamos el grosor promedio de los cepillos es a través del primer momento de la función de concentración del cepillo  $\rho_b$  [97]:

$$\langle h \rangle = \frac{\int_0^{l_z} z \rho_b(z) dz}{\int_0^{l_z} \rho_b(z) dz}, \quad (3.6)$$

en donde  $z$  es la posición en la dirección  $z$ ,  $\rho_b(z)$  es el valor de la densidad del cepillo en la posición  $z$  y  $l_z$  es la longitud de la caja de simulación en la dirección  $z$ .

Debido a que la longitud de persistencia de las cadenas rígidas es mayor [98]; éstas tienden a estar más extendidas y las fluctuaciones térmicas del sistema tienen menos efecto en comparación con las cadenas con menor rigidez, como se refleja en los perfiles de concentración de las cadenas en la Figura 3.3, donde las azules corresponden los cepillos con cadenas más rígidas ( $k_\theta = 100$ ) y las negras a los cepillos con cadenas menos rígidas ( $k_\theta = 10$ ). Las curvas negras decaen de una manera más "suave" que las azules y tienden a cero a valores de  $z$  más pequeños, mientras que la concentración de los cepillos rígidos tiende a cero a valores de  $z$  más grandes.



**Fig. 3.3:** Perfiles de densidad de los sistemas de cepillos *libres* de CENs con una baja y alta densidad de injertos  $\Gamma_2$  (a) y  $\Gamma_1$  (b), y de CECs con  $\Gamma_1$  (c). El perfil del solvente está representado por círculos, mientras que el perfil de los cepillos por líneas continuas. El panel (d) muestra los grosores promedios de los cepillos. Todas las cantidades que mostramos en esta figura están expresadas en unidades reducidas DPD.

Los perfiles de densidad de los sistemas de cepillos *confinados* son mostrados en la Figura 3.4. En esta figura, las curvas de color negro corresponden a los sistemas de cepillos que se encuentran en reposo, i.e., los sistemas en los que no se ha aplicado el movimiento oscilatorio sobre la superficie de la célula; mientras que las curvas azules corresponden a los sistemas de cepillos perturbados, i.e., los sistemas que se encuentran bajo el movimiento oscilatorio. En todas la gráficas de la Figura 3.4 las líneas continuas representan el perfil del cepillo y los círculos representan al perfil del solvente. La curva que representa al perfil de la punta de AFM se ha obviado debido a que la superficie de la punta permanece fija como en un sólido.

En el arreglo estructural que se ve cerca de la superficie de la célula ( $z/\langle h \rangle = 0$ ), la distancia entre máximos varía para cada sistema, pues hay que notar que en cada una de las gráficas que mostramos en la Figura 3.4, el eje  $x$  que representa la dirección en  $z$  de cada sistema, está normalizado por el grosor promedio  $\langle h \rangle$  del cepillo *libre* (ver Figura 3.3(d)); aunque el valor entre máximos dependerá de la forma funcional de la fuerza efectiva usada para modelar la superficie de la célula. Esto se ha estudiado para el caso de fluidos simples confinados tanto por dos fuerzas efectivas linealmente decayentes (ecuación 2.31) como por dos fuerzas efectivas exactas tipo DPD [52]; entonces, para una fuerza efectiva unidireccional de corto alcance y linealmente decayente como la usada en este trabajo (ecuación 2.31), el valor entre máximos es  $\approx 0.7 r_c$ .

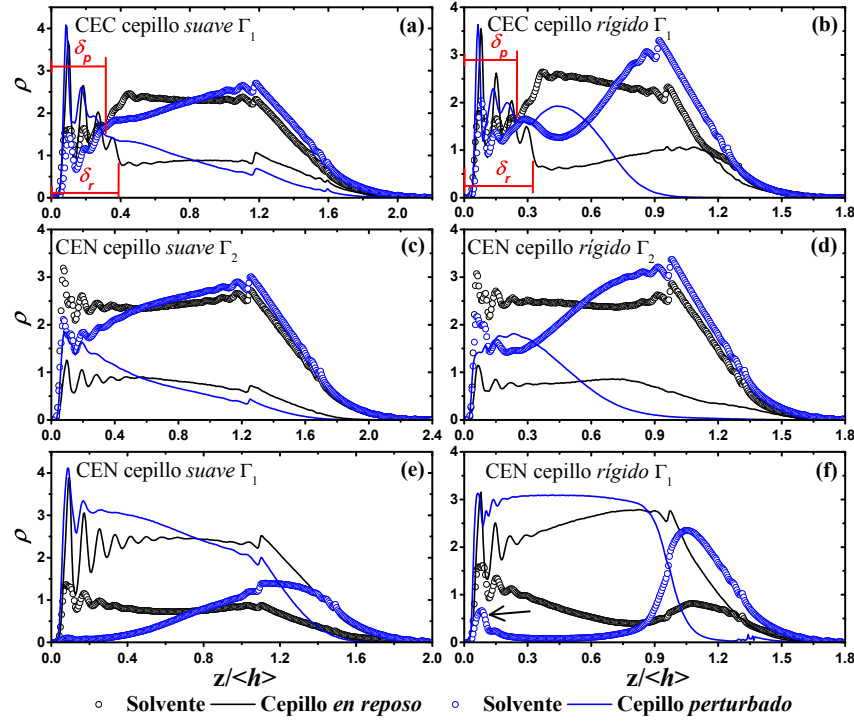


Notamos que el solvente en los sistemas de CECs y CENs en *reposo* (círculos negros en la Figura 3.4), al igual que en los cepillos *libres*, penetra en un mayor grado los cepillos de CENs; por lo que la superficie de una célula sana llega a tener mayor contacto con el medio en que se encuentra. En los cepillos de las CECs, la existencia del arreglo de cadenas pequeñas, en conjunto con los segmentos de las cadenas medianas y largas que se encuentran más cercanos a la superficie celular, producen una densidad local del cepillo en la región cercana a la superficie celular lo suficientemente alta, tal que se forma un recubrimiento que dificulta el contacto del solvente con la superficie.

Encontramos que la capa que se forma cerca de la superficie celular para los cepillos *suaves* tiene una altura de  $\delta_r \approx 3.04 r_c$  y de  $\delta_r \approx 3.06 r_c$  para los cepillos *rígidos* estando éstos en *reposo*. Una vez que los cepillos son perturbados por el movimiento oscilatorio, la capa que recubre la superficie celular disminuye, siendo  $\delta_p \approx 2.41 r_c$  para los cepillos *suaves* y de  $\delta_p \approx 2.39 r_c$  para los cepillos *rígidos*. Estos resultados muestran que la distancia de confinamiento entre la superficie celular y la punta del AFM que nosotros tenemos en estos sistemas, no afecta de forma significativa al arreglo de cadenas cortas del cepillo canceroso, pues el recubrimiento se ve afectado de forma poco significativa, tal que la altura de este recubrimiento disminuye aproximadamente 3.49 % para los cepillos *suaves* y 2.86 % para los cepillos *rígidos*; por su parte, el movimiento oscilatorio externo aparenta tener un mayor efecto, pues en comparación con la altura del recubrimiento que tenemos cuando el cepillo está en *reposo*, éste disminuye aproximadamente 20.72 % para los cepillos *suaves* y 21.90 % para los cepillos *rígidos*.

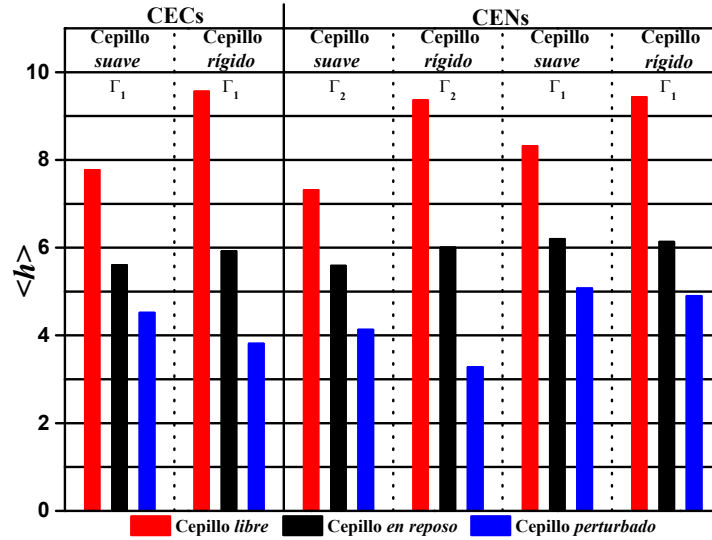
También, una vez que la superficie de la célula se encuentra bajo la influencia del movimiento oscilatorio, encontramos que el arreglo estructural cerca de la superficie de la célula disminuye. Además, este movimiento externo oscilatorio desplaza al solvente lejos de la superficie celular. El aumento en la densidad de injertos de los cepillos de CENs, influye de tal manera que la interacción del solvente con la superficie celular se vuelve prácticamente nula en el caso de los cepillos *suaves*, pues el solvente logra penetrar en el cepillo hasta  $z/\langle h \rangle \approx 0.3$ , mientras que en los cepillos *rígidos* el solvente de alguna manera logra colarse hasta una región muy cercana a la superficie celular (indicada por la flecha en la Figura 3.4(f)).

Encontramos que el grosor promedio del cepillo  $\langle h \rangle$  disminuye como consecuencia del confinamiento por la punta del AFM; esto es esperado desde que colocamos la punta del AFM a una distancia  $d = 10 r_c$  de la superficie de la célula. Así, debido al arrastre generado por el movimiento oscilatorio, el cepillo colapsa hacia la superficie celular ocasionando que el grosor promedio de éste disminuya, lo cual reportamos en la Figura 3.5. Este comportamiento se ha visto antes en estudios de cepillos poliméricos bajo una fuerza de corte oscilatoria, donde se muestra cómo el grosor promedio del cepillo disminuye conforme la intensidad de la fuerza de corte aumenta [99, 100].



**Fig. 3.4:** Perfiles de densidad de los cepillos de CECs y CENs *confinados en reposo* (curvas negras) y *perturbados* (curvas azules). Las gráficas (a), (c) y (e) corresponden a los perfiles de densidad de cepillos *suaves* y las gráficas (b), (d) y (f) a los perfiles de densidad de cepillos *rígidos*. El eje  $x$  representa la dirección en  $z$  de la caja de simulación, normalizada por el grosor promedio del cepillo *libre* de cada sistema. El eje  $y$  es la concentración reducida. La amplitud y frecuencia del movimiento oscilatorio son  $A = 2$  y  $\omega = \pi/100 \Delta t$ , respectivamente. Todas las cantidades aquí mostradas están en unidades reducidas DPD. La flecha en la gráfica (f), indica una pequeña capa de solvente que se forma cerca de la superficie celular.

También notamos que la rigidez de las cadenas que conforman al cepillo juega un papel importante en el grosor promedio de éste. Por una parte, cuando confinamos el sistema con la punta del AFM, el grosor promedio  $\langle h \rangle$  del cepillo se ve reducido en un mayor porcentaje en cepillos compuestos por cadenas más rígidas. Los resultados muestran que el grosor promedio de los cepillos cancerosos *suaves* disminuye un 27.86 % y el de los cepillos normales disminuye 23.61 % y 25.48 % para cepillos con una baja y alta densidad de injertos, respectivamente, mientras que el grosor promedio de los cepillos cancerosos *rígidos* disminuye 38.10 % y el de los cepillos normales con  $\Gamma_2$  y  $\Gamma_1$  disminuye 35.84 % y 34.99 %, respectivamente. Por otra parte, el grosor promedio de los cepillos confinados por la punta del AFM y perturbados por el movimiento oscilatorio externo sufre un mayor encogimiento. En este caso, el grosor promedio de los cepillos cancerosos *suaves* per-



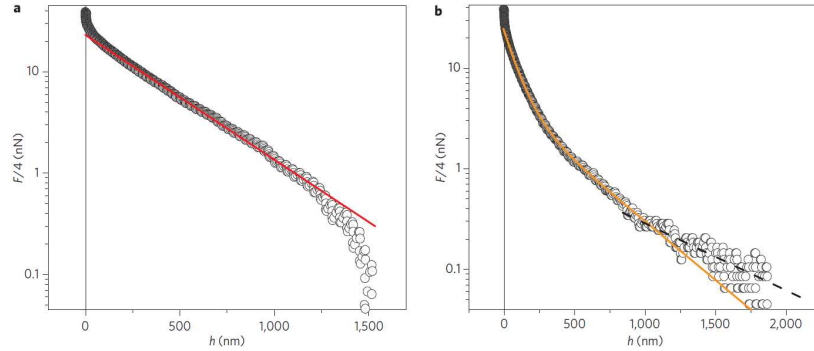
**Fig. 3.5:** Grosor promedio  $\langle h \rangle$  de los cepillos *libres* (barras rojas), los *confinados en reposo* (barras negras) y los *confinados perturbados* (barras azules), para sistemas CECs y CENs. Las cantidades están en unidades reducidas DPD.

turbados por el movimiento oscilatorio disminuye aproximadamente 41.89 % y el de los cepillos normales *suaves* con  $\Gamma_2$  y  $\Gamma_1$  disminuye 43.55 % y 39.00 %, respectivamente; el grosor promedio de los cepillos cancerosos *rígidos* disminuye 60.16 % y el de los cepillos normales *rígidos* disminuye 65.02 % y 48.10 % cuando tienen una baja y alta densidad de injertos, respectivamente. Estos porcentajes son con referencia al grosor promedio de su respectivo cepillo *libre*. La razón de que el cepillo rígido se encoja más es la siguiente: la fuerza de arrastre que se genera sobre los cepillos debido al movimiento oscilatorio que se ejerce en la superficie celular se disipa a menores distancias sobre las cadenas con longitud de persistencia menor, al contrario de las cadenas con mayor longitud de persistencia, las cuales al comportarse como *varillas rígidas*, se verán afectadas en mayor grado por el arrastre ocasionando que el cepillo colapse más.

### 3.2.3. Perfiles de fuerza

Estudios de AFM han demostrado que la respuesta mecánica de los cepillos pericelulares de CENs y CECs difieren entre sí como consecuencia de su composición, i.e., la densidad de injertos y la longitud de las vellosidades, etc. Experimentalmente, se ha encontrado que la fuerza en función de la distancia de separación entre la superficie celular y la punta del AFM de los cepillos de CECs decae más rápido a medida que la distancia de separación aumenta, en comparación con los cepillos de CENs, como se muestra en la Figura 3.6 [4].

Nuestros resultados demuestran como la fuerza de los sistemas de CECs es menor que la de los sistemas de CENs con baja densidad de injertos, y que a una misma densidad de injertos, la fuerza de los cepillos cancerosos y normales muestran diferencias poco significativas entre sí.



**Fig. 3.6:** Curvas de fuerza de los cepillos de CENs (a) y CECs (b) en función de la distancia entre la superficie celular y la punta del AFM. Esta Figura se encuentra en el trabajo de S. Iyer *et al.* en la Ref. [4].

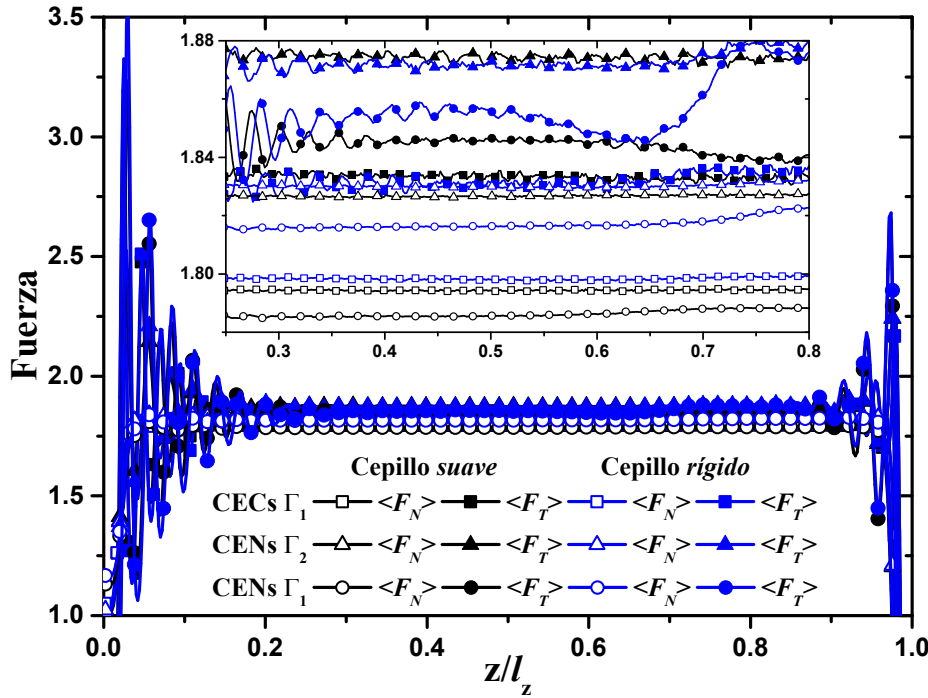
En la Figura 3.7 mostramos los perfiles de fuerzas de los cepillos de CECs y CENs *libres*, para ambos casos de rigidez de las cadenas que conforman a los cepillos y con las diferentes densidades de injertos de los cepillos normales. A pesar de que los cepillos de CEC y CEN difieren en la longitud y densidad de injertos de las cadenas que los componen, los perfiles de la fuerza tangencial ( $\langle F_T \rangle$ ) y la fuerza normal ( $\langle F_N \rangle$ ) a la superficie de la célula son muy similares en magnitud; una diferencia entre las fuerzas es que  $\langle F_T \rangle$  (líneas con símbolos rellenos) muestra oscilaciones cerca de la superficie celular [96] y conforme nos alejamos de esta superficie, en la región de *bulto*, estas oscilaciones se pierden hasta llegar al otro extremo de la caja de simulación, donde se vuelven a observar oscilaciones. En contraste,  $\langle F_N \rangle$  (líneas con símbolos huecos) tiene un comportamiento cuasi constante a lo largo del sistema.

En la tabla 3.3 mostramos los valores de las fuerzas promedio normal y tangencial,  $\langle F_N \rangle$  y  $\langle F_T \rangle$ , de los cepillos *libres* en la región  $0.25 \lesssim z/l_z \lesssim 0.80$  (inset de la Figura 3.8). Hemos notado que al aumentar la densidad de injertos en los cepillos de las CENs, la fuerza tangencial promedio exhibe un comportamiento menos constante antes de entrar en la región de oscilaciones cercana a la pared situada en  $z/l_z = 1$  (círculos en el inset de la Figura 3.7), sobre todo el perfil de los cepillos rígidos (círculos azules en la Figura 3.7).

Los perfiles de fuerza de los sistemas de cepillos de CECs y CENs confinados por la punta del AFM los mostramos en la Figura 3.8, tanto para los sistemas en *reposo* (panel a) como para los *perturbados* (panel b). Al igual que en el caso donde los cepillos se encuentran *libres*, el comportamiento oscilatorio de la fuerza tangencial cerca de la su-

**Tabla 3.3:** Tabla de valores de la fuerza normal promedio  $\langle F_N \rangle$  y la fuerza tangencial promedio  $\langle F_T \rangle$  en la región de bulto ( $0.25 \lesssim z/l_z \lesssim 0.80$ ) de los cepillos *libres*. Los valores están expresados en unidades reducidas DPD.

	Cepillo <i>suave</i>		Cepillo <i>rígido</i>	
	$\langle F_N \rangle$	$\langle F_T \rangle$	$\langle F_N \rangle$	$\langle F_T \rangle$
CEC $\Gamma_1$	1.795	1.834	1.799	1.832
CEN $\Gamma_2$	1.827	1.875	1.830	1.872
CEN $\Gamma_1$	1.787	1.845	1.816	1.853

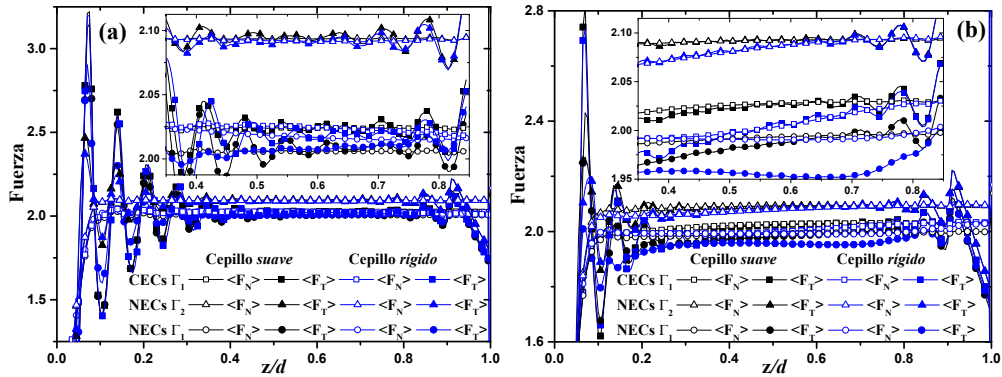


**Fig. 3.7:** Perfiles de fuerza de los sistemas de cepillos *libres*. Las líneas con símbolos huecos corresponden a los perfiles de la fuerza promedio normal a la superficie de la célula ( $\langle F_N \rangle$ ) y las líneas con símbolos llenas corresponden a los perfiles de la fuerza promedio tangencial a la superficie de la célula ( $\langle F_T \rangle$ );  $l_z$  es el tamaño de la caja de simulación en la dirección  $z$ . Los símbolos son solo un distintivo. Las unidades están en unidades reducidas DPD.

perficie celular disminuye conforme nos alejamos de ésta y se vuelve cuasi constante en la región de *bulto* para los cepillos que están en *reposo*, hasta que cerca de la superficie de la punta del AFM vuelven a verse otras oscilaciones. Mientras tanto el perfil de la fuerza normal promedio sigue presentando un comportamiento cuasi constante, lo cual se

ha visto anteriormente en los perfiles de la componente normal de la presión de sistemas confinados por dos paredes particulares estructuradas [73].

Cuando los cepillos se encuentran en reposo, encontramos que las fuerzas promedio de los cepillos cancerosos son menores que la de los cepillos normales con una baja densidad de injertos, hablando del valor que se observa en la región de *bulto* en los perfiles, los cuales, en unidades reducidas DPD son  $\langle F_T \rangle \approx \langle F_N \rangle \approx 2.02$  y  $\langle F_T \rangle \approx \langle F_N \rangle \approx 2.09$ , respectivamente. Cuando la densidad de injertos de los cepillos normales es la misma que la de los cepillos cancerosos, vemos que las fuerzas promedio disminuyen hasta valores menores a 2.02 y mayores a 2; en este escenario, la única diferencia entre los cepillos normales y cancerosos es la dispersión en la longitud de las cadenas, pero vemos que la diferencia en la magnitud de las fuerzas depende en mayor grado de la densidad de injertos que de la dispersión de longitudes.



**Fig. 3.8:** Perfiles de fuerza de los sistemas de cepillos *confinados*. En el panel (a) mostramos los perfiles de los sistemas de cepillos *en reposo* y en el panel (b) los sistemas de cepillos *perturbados*, la amplitud y la frecuencia de la velocidad oscilatoria externa es de  $A = 2$  y  $\omega = \pi/100\Delta t$ , respectivamente y  $d$  es la distancia de separación entre la superficie celular y la superficie de la punta del AFM. Las cantidades están en unidades reducidas DPD.

Una vez que los cepillos son perturbados por el movimiento oscilatorio aplicado sobre la superficie celular (ecuación 2.32), la magnitud de los picos en las oscilaciones cerca de esta superficie disminuyen, tanto para las CECs como para las CENs. Encontramos que la magnitud de los perfiles de fuerzas de los cepillos cancerosos y los normales con  $\Gamma_2$  en la región de *bulto* varía con la rigidez de sus cadenas, tanto  $\langle F_T \rangle$  como  $\langle F_N \rangle$ , y que los perfiles de los cepillos *suaves* tienden a ser relativamente más constantes en la región de *bulto* que sus contrapartes *rígidos*. También notamos que  $\langle F_T \rangle \approx \langle F_N \rangle$  para los casos de cepillos cancerosos y los normales con  $\Gamma_2$ , mientras que al aumentar la densidad de injerto de los cepillos normales,  $\langle F_T \rangle$  tiende a ser menor que  $\langle F_N \rangle$ . Además, al igual que los cepillos *en reposo*, se muestra como las fuerzas promedio de los cepillos de CENs

disminuyen al aumentar la densidad de injertos.

### 3.2.4. Tensión interfacial $\gamma$

La tensión interfacial fue calculada a partir de la definición estándar [73, 101, 102] (ecuación 3.7). En la cual usamos los únicos dos componentes diagonales del tensor de presión, el normal y el tangencial, obtenidos mediante el teorema del virial y descrita por la siguiente ecuación:

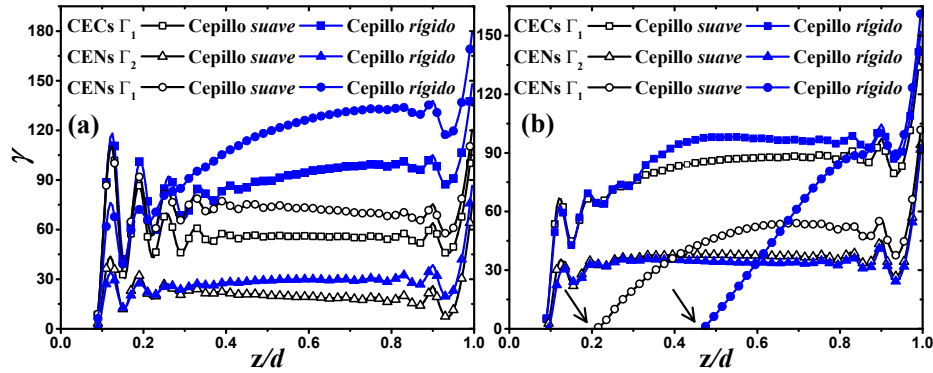
$$\gamma(z') = \int_0^{z'} [P_N(z) - P_T(z)] dz, \quad (3.7)$$

la cual es una suma acumulativa de la diferencia entre la media del componente normal del tensor de presión ( $P_N = F_N/A$ ) y la media del componente tangencial del tensor de presión ( $P_T = F_T/A$ ), sobre las  $n$  rebanadas de tamaño  $\Delta z$  en que está dividido el sistema en la dirección  $z$ . Este perfil se muestra de tal manera que uno puede identificar la interfaz cepillo-solvente y aquella donde el cepillo, el solvente y la punta del AFM coexisten.

El cálculo empieza en  $z/d = 0$ , en donde las primeras oscilaciones están relacionadas con aquellas que están presentes en los perfiles de la fuerza tangencial promedio. En la región de *bulto* el comportamiento no oscilatorio es característico. Si observamos que el perfil se mantiene constante, es evidente que en dicha región  $\langle P_N \rangle - \langle P_T \rangle \rightarrow 0$ ; sin embargo, si el perfil se vuelve creciente o decreciente, significa que  $\langle P_N \rangle - \langle P_T \rangle > 0$  o  $\langle P_N \rangle - \langle P_T \rangle < 0$ , respectivamente. Debido a que el comportamiento de  $\langle F_N \rangle$  es cuasi constante a lo largo de la región de confinamiento, el aumento o decremento de la fuerza tangencial predomina sobre la forma cualitativa de los perfiles de  $\gamma$ .

En la Figura 3.9 mostramos los perfiles de la tensión interfacial de los sistemas *confinados en reposo* (panel a) y *perturbados* (panel b). Encontramos que el valor de la tensión interfacial en la región de *bulto* de los cepillos cancerosos en *reposo* (Figura 3.9(a)) es más alta que la de los cepillos normales con baja densidad de injertos pero es menor que la de los cepillos normales con la misma densidad de injertos que los cepillos cancerosos; esta tendencia es consistente para los cepillos *suaves* y *rígidos*. También encontramos que la tensión interfacial aumenta con la densidad de injertos, esto para los cepillos normales en *reposo*, donde observamos la misma tendencia en los dos casos de rigidez. Además, notamos que la tensión interfacial aumenta con la rigidez de las cadenas que conforman los cepillos.

Cuando la superficie celular es sometida al movimiento oscilatorio externo, la tensión interfacial de los sistemas de cepillos cancerosos y cepillos normales con baja densidad de injertos aumenta en ambos casos de rigidez, comparando con sus contrapartes en *reposo*. Sin embargo, al ver la Figura 3.9(a), nos damos cuenta que  $\gamma$  depende en menor grado



**Fig. 3.9:** Perfiles de la tensión interfacial de los sistemas de cepillos confinados en reposo (a) y perturbados (b). La velocidad oscilatoria externa aplicada a los sistemas del panel b tiene amplitud de  $A = 2$  y frecuencia de  $\omega = \pi/100\Delta t$ . Las flechas en la gráfica (b) indican el punto donde comienza la interfaz solvente-cepillo. Las cantidades mencionadas en esta figura están en unidades reducidas DPD.

de la rigidez cuando los cepillos mencionados antes están bajo el efecto del movimiento oscilatorio externo.

Los sistemas de cepillos normales con una alta densidad de injertos, al ser perturbados, muestran un decremento en los valores de la tensión interfacial debido a que el solvente es desplazado hacia la punta del AFM a causa de la perturbación oscilatoria, pues notamos que en ciertas regiones del sistema las interfases se vuelven bien definidas (ver Figura 3.4(e) y 3.4(f)). Es por eso que el perfil de la tensión interfacial comienza a crecer en puntos más alejados de la superficie celular (indicados por las flechas en la Figura 3.9(b)). Por esta razón, los resultados de la tensión interfacial son menores para los cepillos normales perturbados con alta densidad de injertos que aquellos en reposo; pues entendemos que si la región de la interfase se vuelve bien definida, el estrés que existe en dicha región disminuye.

Hay que enfatizar el hecho de que  $\gamma(z')$  es una suma acumulativa, por lo que en las regiones donde el perfil es constante entendemos que la tensión interfacial es 0. En el caso del cepillo de CEN *rígido*, no es observable este comportamiento constante debido a que para altas densidades de injertos de cadenas muy rígidas, la distancia de confinamiento utilizada no es la suficiente como para observar diferenciar entre las interfases cepillo-solvente y solvente-punta de AFM.

### 3.2.5. Viscosidad $\eta$ y COF $\mu$

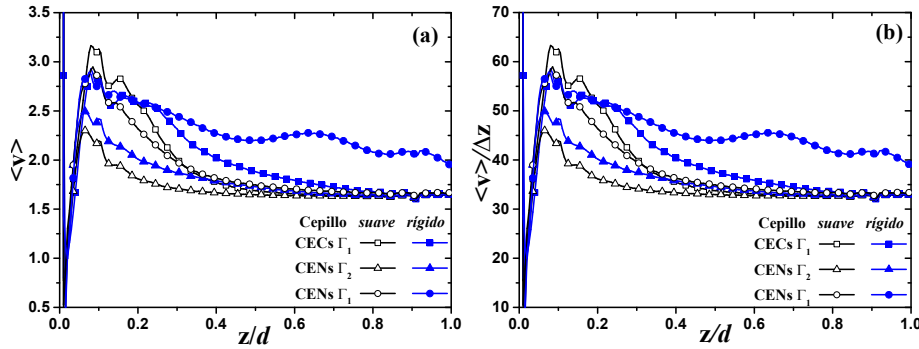
La viscosidad de los sistemas también es reportada como perfiles a lo largo de la dirección  $z$  de éste. Para estudiar su comportamiento viscoso es necesario que exista un flujo que



perturbe al mismo sistema; en este trabajo, como se ha mencionado, se ha implementado un movimiento oscilatorio externo que actúa sobre los cepillos sujetos a la superficie celular. Este movimiento oscilatorio produce una velocidad de corte, la cual no es constante, como lo es en un flujo tipo Couette entre dos superficies planas paralelas [67], y está definida por la siguiente ecuación:

$$\dot{\gamma} = \frac{\langle v \rangle}{\Delta z}, \quad (3.8)$$

donde  $\langle v \rangle$  es la velocidad promedio del sistema y  $\Delta z$  el tamaño de la rebanada. En la ecuación 3.8,  $\langle v \rangle$  fue obtenida mediante la ecuación 3.5, donde  $\chi$  es la velocidad en la dirección que se aplica el movimiento oscilatorio;  $\langle v \rangle$  disminuye conforme uno se aleja de la superficie de la célula hasta que el valor de la velocidad promedio llega a un mínimo, como se puede notar en la Figura 3.10(a). Entonces, es entendible que el perfil de la velocidad de corte sea semejante al de la velocidad promedio, siendo que esta última es proporcional a  $\langle v \rangle$  y que  $\Delta z$  es constante (ver Figura 3.10(b)).



**Fig. 3.10:** Perfiles de la velocidad promedio  $\langle v \rangle$  (a) y perfiles de la velocidad de corte  $\dot{\gamma} = \langle v \rangle / \Delta z$  (b). Los ejes  $x$  están normalizados por  $d$ , que es la distancia entre la superficie de la célula y el punto más cercano a la superficie de la punta del AFM. Las unidades que aparecen aquí están en unidades reducidas DPD.

El cálculo de la velocidad de corte es importante si se desea estudiar la viscosidad del sistema, pues la viscosidad es inversamente proporcional a la velocidad de corte. La viscosidad fue calculada de la siguiente manera [67]

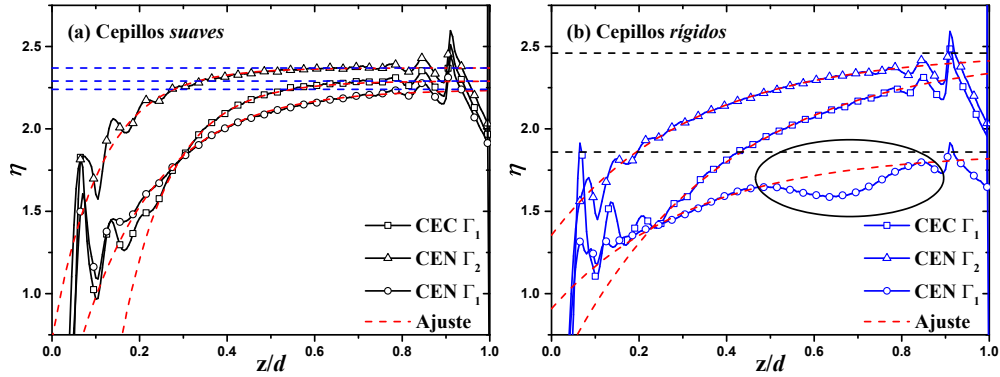
$$\eta = \frac{\langle F_T \rangle / A}{\dot{\gamma}}, \quad (3.9)$$

en donde  $\langle F_T \rangle$  es el promedio de la componente tangencial de la fuerza, la cual se ve en la Figura 3.8(b),  $A$  es el área del plano  $xy$  tangencial a la dirección del movimiento

oscilatorio externo y la velocidad de corte  $\dot{\gamma}$  se muestra en la Figura 3.10(b). Usando la ecuación 3.11, junto con la información presentada en las Figuras 3.8(b) y 3.10(b), generamos los perfiles de viscosidad que mostramos en la Figura 3.11. Podemos apreciar que el comportamiento del perfil de viscosidad es no-lineal, lo cual es consistente con el hecho de que el sistema estudiado es un fluido complejo.

En la Figura 3.11 mostramos los perfiles de viscosidad de cepillos *suaves* (panel a) y *rígidos* (panel b) y observamos que cerca de la superficie celular ( $z/d = 0$ ) el perfil de viscosidad muestra algunos picos separados por una distancia que es consistente con los picos observados en los perfiles de  $\langle F_T \rangle$ . Por una parte, encontramos que la forma cualitativa de los perfiles de cepillos cancerosos (cuadros en la Figura 3.11) y normales con una baja densidad de injertos (triángulos en la Figura 3.11) son similares entre sí, si mantenemos la rigidez de sus cadenas fija. Es importante remarcar que la rigidez tiene un papel importante en estas investigaciones, pues nuestra hipótesis es que la rigidez es directamente proporcional al grado de avance del cáncer en la célula. Notamos que en ambos casos de rigidez, el perfil en la región de *bulto*, i.e., en la zona lejos de la interacción efectiva con las paredes de confinamiento, tiene un comportamiento que se ajusta a una forma exponencial asintótica al valor  $\eta' = \eta'_0$  (líneas discontinuas en la Figura 3.11) de la forma

$$\eta'(z) = \eta'_0 - \beta \exp[-az + b] , \quad (3.10)$$



**Fig. 3.11:** Perfiles de viscosidad de cepillos *suaves* (a) y *rígidos* (b). Las líneas punteadas azules y negras corresponden a los valores de  $\eta'_0$  (ver tabla 3.4). Las curvas discontinuas rojas son el ajuste que corresponde a la ecuación (3.10). La región marcada por el óvalo está descrita en el texto. Los ejes  $x$  de ambas gráficas representan la dirección  $z$  del sistema normalizada por  $d$  que es la distancia mínima entre la superficie celular y la punta del AFM. Las cantidades están en unidades reducidas DPD.

donde  $\beta$  es un factor de viscosidad que se relaciona con la composición química de las cadenas del cepillo, y  $a = c/d$  y  $b$  son parámetros que determinan la disipación de la fuerza de corte. Asumimos que debido a la distancia de confinamiento  $d$ , en los casos de mayor rigidez (curvas azules en la Figura 3.11) el sistema no tiene el suficiente espacio entre paredes para alcanzar el valor de  $\eta'_0$ . Por otra parte, notamos que los perfiles de los cepillos normales con una alta densidad de injertos (círculos en la Figura 3.11) también ajustan a la ecuación 3.10 en la región de *bulto*. Los resultados muestran que el comportamiento de los perfiles de viscosidad de los cepillos, dependen significativamente de la rigidez y de la densidad de injertos de las cadenas. Encontramos que a valores altos de rigidez y densidad de injertos el comportamiento del perfil de viscosidad muestra oscilaciones en regiones más alejadas de la punta del AFM (ver la región marcada por el ovalo negro en la Figura 3.11(b)), lo cual es algo excepcional en los perfiles que hemos estudiado hasta este punto. En la tabla 3.4 mostramos los valores de los parámetros  $\eta'_0$ ,  $c$  y  $b$  de los ajustes realizados con la ecuación 3.10 a los perfiles de viscosidad en la región de *bulto*.

**Tabla 3.4:** Tabla de parámetros  $\eta'_0$ ,  $c$  y  $b$  de la ecuación 3.10 en unidades reducidas DPD, la cual fue utilizada para hacer un ajuste a los perfiles de viscosidad mostrados en la Figura 3.11.

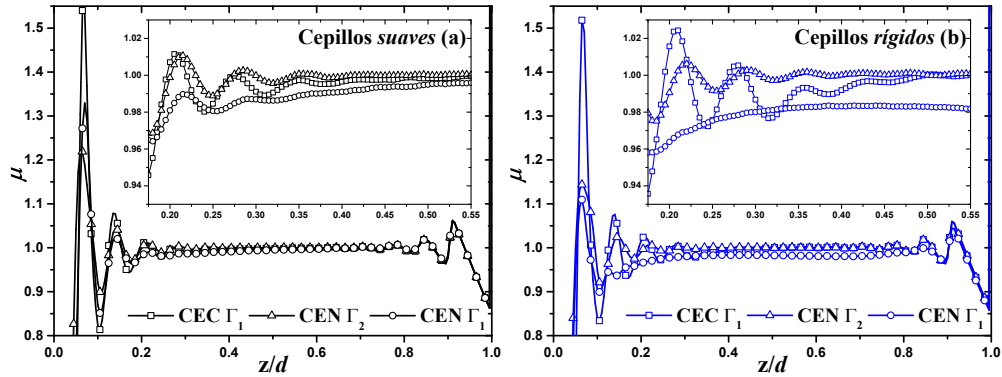
	Cepillo <i>suave</i>			Cepillo <i>rígido</i>		
	$\eta'_0$	$c$	$b$	$\eta'_0$	$c$	$b$
CEC $\Gamma_1$	2.29	88.5	1.85	2.46	27.9	0.70
CEN $\Gamma_2$	2.37	91.1	0.50	2.46	31.5	0.10
CEN $\Gamma_1$	2.24	56.9	0.80	1.86	31.5	-0.05

El Coeficiente de fricción (COF) del sistema ha sido calculado mediante la siguiente ecuación [103]:

$$\mu = \frac{\langle F_T \rangle}{\langle F_N \rangle}, \quad (3.11)$$

que es la relación entre el promedio de la componente tangencial sobre el promedio de la componente normal de la fuerza, las cuales aparecen en la Figura 3.8(b). Por definición el COF es una cantidad adimensional y puede ser una característica muy útil de estudiar en estos modelos de cepillos pericelulares, debido a que puede ser medida usando la técnica de AFM [104].

En la Figura 3.12 mostramos los perfiles del COF de los cepillos *suaves* (panel a) y *rígidos* (panel b). Podemos ver que esta propiedad no presenta diferencias notables en la



**Fig. 3.12:** Comparación entre los perfiles del COF de los cepillos *suaves* (a) y *rígidos* (b) mostrando los tres diferentes modelos de cepillos, polidispersos (cuadros) y monodispersos con una baja y alta densidad de injertos (triángulos y círculos respectivamente). El eje  $x$  representa la dirección de confinamiento normalizada por la distancia entre la superficie celular y la superficie de la punta del AFM.

tendencia de los perfiles entre los dos modelos de cepillos (cancerosos y sanos) como en otras propiedades reportadas en este trabajo. Sin embargo, hay ciertos detalles que merecen ser discutidos. Observamos que el COF en la interfaz solvente - punta del AFM, el comportamiento en general es el mismo para todos los casos reportados debido a que el fluido es identificable entre los diferentes sistemas a la distancia en donde dicha interfaz se encuentra de la superficie celular  $d = 10 r_c$ . Además, notamos que los parámetros de conformación estructural de los cepillos como la densidad de injertos y rigidez son secundarios al analizar el COF en la interfaz antes mencionada y en regiones del fluido cercanas a ésta, debido a que las contribuciones normales y laterales a la fuerza total del sistema son iguales, por lo que  $\mu$  es igual. Pero en la interfaz superficie celular - fluido, dichos parámetros se vuelven distintivos, pues existen diferencias cualitativas como la intensidad de las oscilaciones cerca de dicha interfaz entre los cepillos cancerosos y normales, o el número de oscilaciones y la magnitud del COF para los cepillos normales con diferente densidad de injertos.

### 3.3. Efectos de la perturbación externa

En esta sección analizamos los efectos generados por el cambio en la amplitud y la frecuencia del movimiento oscilatorio aplicado sobre los cepillos. El objetivo es encontrar las tendencias que surgen en las propiedades termodinámicas y reológicas debido a la fuerza de corte generada por el movimiento oscilatorio externo; en esta sección enfocamos el estudio en los cepillos *suaves* de CECs.

### 3.3.1. Detalles computacionales

Los sistemas diseñados para este estudio fueron sistemas de cepillos de CECs *confinados*, tanto en *reposo* como *perturbados*; la definición de estos sistemas se menciona en la sección 3.2.1.

Los sistemas modelados para estudiar en esta sección, al igual que los de la sección 3.2, cuentan con condiciones de periodicidad en las direcciones  $x$  y  $y$ , mientras que en  $z$  no existen condiciones periódicas debido a que es la dirección de confinamiento. Las dimensiones de la caja de simulación de los sistemas aquí modelados son  $l_x = l_y = 20 r_c$  y  $l_z = 26 r_c$ . En esta sección, el volumen ( $V$ ) y número de partículas DPD de cada sistema son los mismos que los mostrados en la tabla 3.1 para cepillos de CECs  $\Gamma_1$  *confinados*. Los valores de las constantes de las fuerzas entre dos y tres cuerpos que se usaron en el modelado de las cadenas que componen al cepillo de las CECs fueron  $k_S = 100 k_B T / r_c^2$  y  $k_\theta = 10 k_B T / r_c$ , respectivamente; en este estudio, a diferencia del de la sección 3.2, sólo se utilizó un valor de la constante de fuerza entre tres cuerpos, pues lo que buscamos es estudiar de una manera más significativa el efecto de la fuerza de corte externa.

La punta del AFM está representada por una superficie curva con un radio de curvatura de  $R = 0.8 l_x$  compuesta de partículas DPD y fijadas como si se tratará de un sólido; esto se logra mediante la restricción de los grados de libertad de las partículas. Los parámetros de amplitud y la frecuencia del movimiento oscilatorio externo usados en este estudio varían entre  $A = 2, 3$  y  $4$ , y  $\omega = \pi/100\Delta t$  y  $\pi/200\Delta t$ , respectivamente. La tabla 3.4 muestra los parámetros del movimiento oscilatorio para cada sistema estudiado en esta sección.

**Tabla 3.5:** Tabla de parámetros de los sistemas de cepillos de CECs *confinados*, siendo  $A$  y  $\omega$  la amplitud y la frecuencia del movimiento oscilatorio externo ejercido sobre los cepillos. Las cantidades están en unidades reducidas DPD.

Células cancerosas		
Sistema	$A$	$\omega$
1	0	0
2	2	$\pi/100$
3	2	$\pi/200$
4	3	$\pi/100$
5	3	$\pi/200$
6	4	$\pi/100$
7	4	$\pi/200$

Al igual que en las corridas de la sección 3.2, las corridas realizadas en este caso también se llevan a cabo en dos etapas: la etapa de termalización, y la etapa de producción.

La primer etapa consta de 5 bloques de  $10^4$  pasos de tiempo DPD de  $\Delta t = 0.01$ , mientras que la etapa de producción consta de 15 bloques de  $10^4$  pasos de tiempo DPD de  $\Delta t = 0.03$ .

### 3.3.2. Perfiles de densidad y grosor promedio de los cepillos $\langle h \rangle$

El estudio de los perfiles de densidad del sistema refleja algunos efectos de la fuerza de corte producida por el movimiento oscilatorio externo. Notamos que el solvente cerca de la superficie celular es desplazado en un mayor grado al aumentar la amplitud del movimiento oscilatorio, alcanzando una densidad local máxima cerca de la superficie de la punta del AFM. Además, el ordenamiento que tiene el cepillo cerca de la superficie celular ( $z/\langle h \rangle = 0$ ) se ve reducido conforme aumentamos la amplitud del movimiento oscilatorio externo; lo cual ya ha sido estudiado anteriormente [7, 99, 105] y podemos observar esto en los perfiles de densidad de la Figura 3.13, tomando como referencia los perfiles del sistema en *reposo* (Figura 3.13(a)).

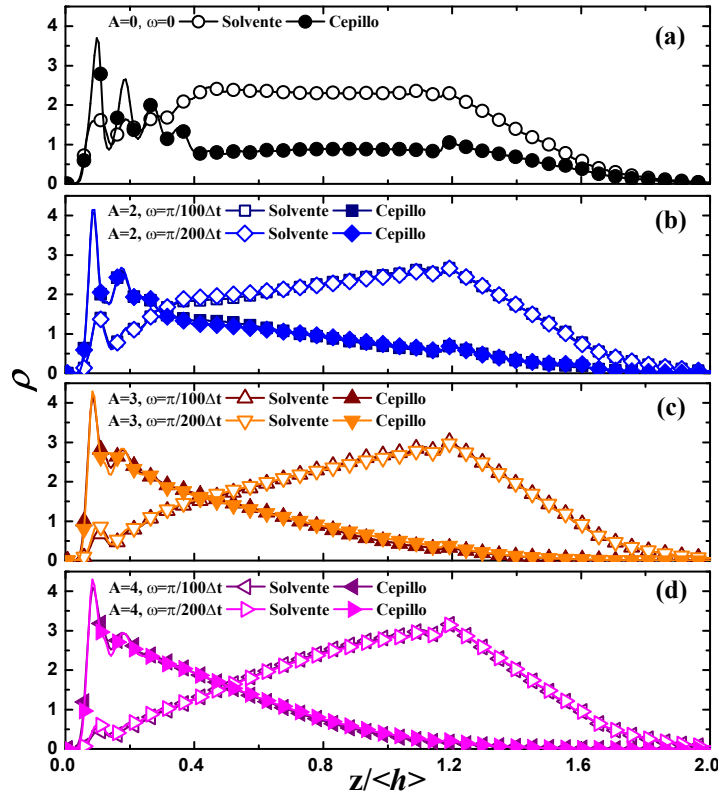
Por otra parte, el movimiento oscilatorio provoca el colapso del cepillo hacia la superficie celular. Estos resultados concuerdan con estudios de cepillos poliméricos influenciados por una fuerza de corte oscilatoria, en donde el grosor promedio del cepillo decrece conforme la intensidad de la fuerza de corte aumenta [99, 100].

En la Figura 3.14(a) mostramos los valores del grosor promedio de los cepillos, mientras que en la tabla 3.5 mostramos el porcentaje de reducción de los cepillos considerando el valor del cepillo *libre* como el valor máximo de  $\langle h \rangle$ .

**Tabla 3.6:** Tabla de porcentajes de reducción de  $\langle h \rangle$  tomando como el 100 % el valor de  $\langle h \rangle$  del cepillo *libre*.

Sistema	1	2	3	4	5	6	7
% reducido de $\langle h \rangle$	27.86	41.89	41.18	53.48	51.99	58.08	57.30

En la Figura 3.14(b) mostramos los valores del grosor promedio de los cepillos poli-dispersos (cepillos de CECs) en función de la amplitud del movimiento oscilatorio externo ( $A$ ), el cual decrece linealmente conforme la amplitud de la forma  $\langle h \rangle = 5.62 - 0.61 A$  (curva azul en la Figura 3.14(b)); donde la frecuencia aparentemente no tiene una influencia notable en la estructura de los cepillos, lo cual es consistente con los resultados que indican que las cadenas no tienen el tiempo suficiente para relajarse ante la inversión de la dirección del movimiento [100]. Este ajuste solo es válido para el rango de  $A$  mostrado en la Figura 3.14(b). Si uno continuara aumentando  $A$ , esperaríamos que existiera un punto de inflexión que nos indicaría que  $\langle h \rangle$  se estabilizó a un valor de  $\langle h \rangle \sim r_c$ , debido a que

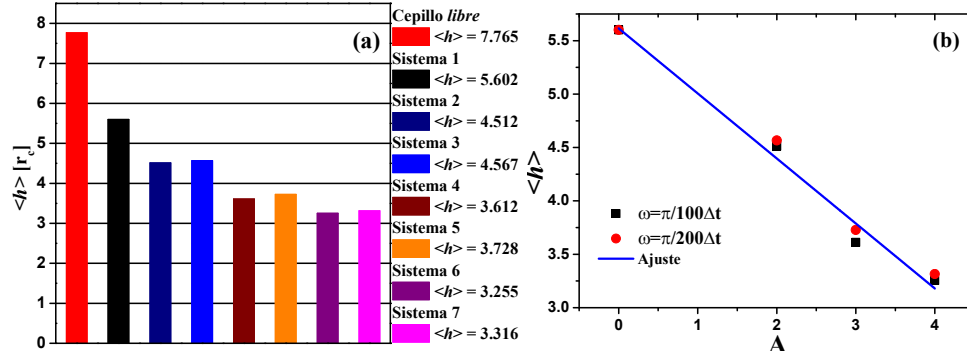


**Fig. 3.13:** Perfiles de densidad de los sistemas en *reposo* (a) y aquellos influenciados por el movimiento oscilatorio externo (b-d). Los valores están en unidades reducidas DPD.

el arrastre generado por la intensidad del movimiento externo haría colapsar al cepillo en un arreglo cuasi-bi dimensional. Estos resultados concuerdan con aquellos obtenidos en simulaciones de dinámica Browniana de cepillos bimodales bajo una fuerza de corte [7].

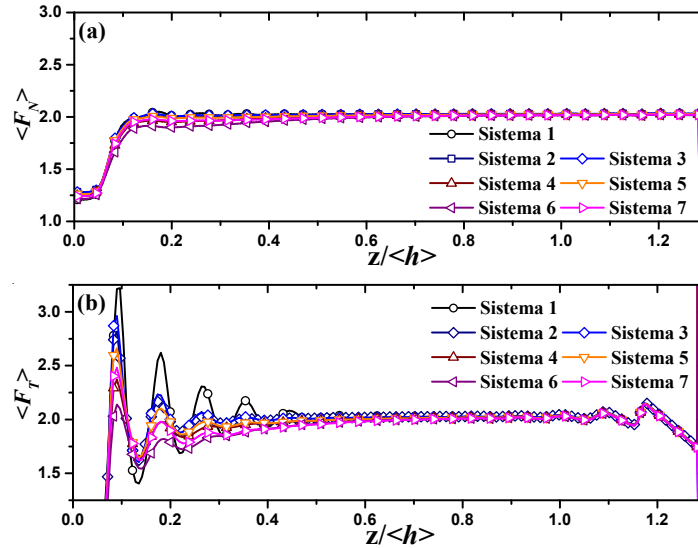
### 3.3.3. Perfiles de fuerza

En la Figura 3.15 mostramos los perfiles de la componente normal (Figura 3.15(a)) y tangencial (Figura 3.15(b)) de la fuerza de los sistemas de CECs para los diferentes casos de amplitud y frecuencia. Los perfiles de  $\langle F_N \rangle$  muestran un comportamiento constante en la región de  $0.5 \lesssim z/\langle h \rangle \lesssim 1.3$ , donde la magnitud de la fuerza en unidades reducidas DPD es  $\langle F_N \rangle \approx 2$  para todos los casos trabajados, pero cerca de la superficie celular la fuerza disminuye a causa de la perturbación externa, lo cual puede ser un buen indicador para saber la distancia de propagación en la dirección  $z$  de la perturbación externa. La fuerza normal es altamente dependiente de la densidad y de la distancia de confinamiento;



**Fig. 3.14:** Grosor promedio de los cepillos bajo el efecto de la perturbación oscilatoria externa a diferentes valores de amplitud  $A$  y frecuencia  $\omega$ , ver tabla 3.4. El cepillo *libre* se refiere al cepillo que no está confinado por la superficie curva que representa a la punta del AFM. El ajuste (curva azul en el panel b), solo es válido para los valores de amplitud mostrados.

desde que éstas son constantes, encontramos que  $\langle F_N \rangle$  es prácticamente insensible a las oscilaciones transversales inducidas, como mostramos en la Figura 3.15(a).



**Fig. 3.15:** Perfiles de la componente normal (a) y tangencial (b) de la fuerza de los sistemas de CECs en unidades reducidas DPD. La numeración de los sistemas hace referencia a los sistemas que están bajo la influencia del movimiento oscilatorio externo con los parámetros de amplitud y frecuencia mostrados en la Tabla 3.2.

Por otro lado, el comportamiento de  $\langle F_T \rangle$  cerca de la superficie celular es oscilato-

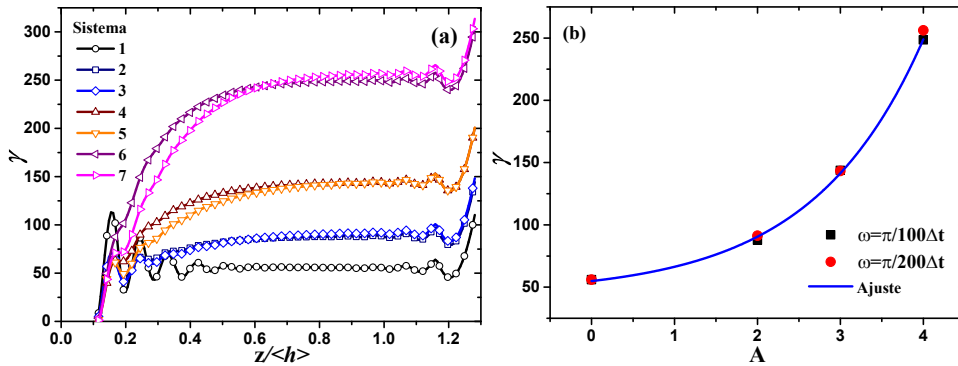


rio. Notamos que la magnitud de ésta disminuye conforme aumentamos la amplitud del movimiento oscilatorio, y si mantenemos fija la amplitud, la fuerza disminuye conforme aumentamos la frecuencia. Este último efecto se aprecia de mejor manera cuando manejamos amplitudes relativamente altas en comparación con las dimensiones del sistema, y en nuestro caso lo podemos ver si comparamos los perfiles de los sistemas 6 y 7 en la Figura 3.15(b).

Las propiedades como la tensión interfacial y el COF están definidas en términos de las fuerzas normales y tangenciales, por lo que es de esperarse que las características que muestran los perfiles de estas fuerzas sean señal de su comportamiento asimétrico. Encontrar diferentes las tendencias que pueden presentar los perfiles de CECs y CENs puede ayudar a determinar la naturaleza de las células epiteliales mediante el uso del AFM [53].

### 3.3.4. Tensión interfacial $\gamma$

Al igual que en la subsección 3.2.4, la tensión interfacial para estos sistemas es calculada por la ecuación 3.7. La diferencia es que en esta ocasión el eje que corresponde a la dirección de confinamiento del perfil de la tensión interfacial que mostramos en la Figura 3.16(a) (eje  $x$ ), fue normalizado con el grosor promedio del cepillo *libre* de las CECs *suaves*. La razón es que así podemos hacer comparaciones directas con los experimentos, los cuales son reportados de forma similar.



**Fig. 3.16:** (a) Perfiles de la tensión interfacial de los sistemas de CECs *confinados*; al igual que en la figura anterior los números de los sistemas son los que corresponden a los de la Tabla 3.2. (b) Curva de la tensión interfacial promedio dependiente de la amplitud del movimiento oscilatorio externo para ambos casos de frecuencia; la curva azul es la curva de ajuste. Las cantidades están en unidades reducidas DPD.

De la Figura 3.16(a), notamos que la tensión interfacial del sistema en *reposo* muestra oscilaciones en la región  $0.1 \lesssim z/\langle h \rangle \lesssim 0.5$ , las cuales se han observado tanto en

los perfiles de densidad (Figura 3.13) como en los perfiles de fuerza tangencial (Figura 3.15(b)). La distancia entre máximos es de  $0.09z/\langle h \rangle \sim 0.7r_c$  y es la misma que en los máximos de los perfiles antes mencionados. Para puntos  $z/\langle h \rangle$  posteriores a la región de oscilación, la tensión interfacial se vuelve constante debido a que en esa región del fluido la diferencia entre la componente normal y tangencial de la fuerza es prácticamente cero, i. e.,  $\langle F_N \rangle \approx \langle F_T \rangle$ . Las oscilaciones que aparecen en la región posterior a  $z/\langle h \rangle = 1$ , se deben a la interacción con la superficie de la punta del AFM. La tensión interfacial aumenta conforme la amplitud del movimiento oscilatorio externo, como consecuencia de la reducción de la fuerza tangencial del sistema debido al aumento de la misma amplitud de la perturbación oscilatoria externa. Para esta propiedad, la frecuencia aparentemente no tiene algún efecto significativo.

En la Figura 3.16(b) mostramos la curvas de la tensión interfacial media de los sistemas dependiente de la amplitud, para las frecuencias de  $\omega = \pi/100\Delta t$  (curva negra) y  $\omega = \pi/200\Delta t$  (curva roja), así como un ajuste (línea azul) que nos indica que el crecimiento de la tensión interfacial es exponencial, de la forma  $\gamma = 10.33e^{A/1.34} + 44.5$ . Este ajuste es válido solo para el rango de amplitudes mostrado en la Figura 3.16(b).

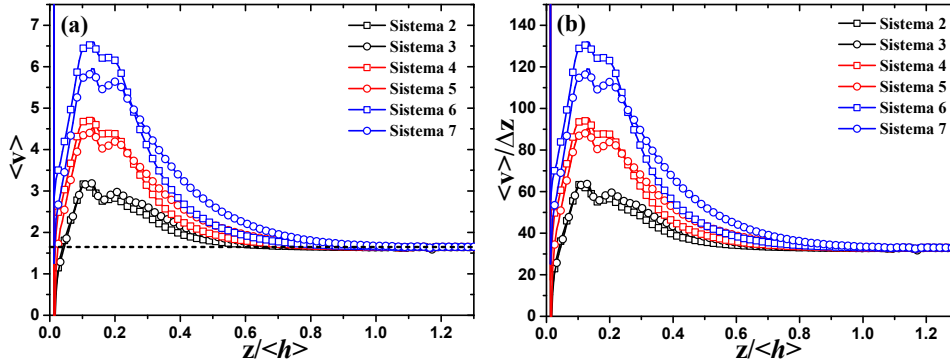
### 3.3.5. Viscosidad $\eta$ y COF $\mu$

Siguiendo la misma metodología que en la subsección 3.2.5, calculamos la viscosidad y el COF de los sistemas de CECs *suaves* bajo los diferentes parámetros de amplitud y frecuencia del movimiento oscilatorio externo.

La viscosidad es calculada mediante la ecuación 3.9, donde es necesario el conocer la velocidad (tangencial) de corte generada por el movimiento oscilatorio (ecuación 2.30), que a su vez está ligada a la velocidad (tangencial) promedio del sistema en cada punto  $z/\langle h \rangle$ . Siendo así, los perfiles de velocidad promedio y de la velocidad de corte del sistema tienen el mismo comportamiento cualitativo y están mostrados en la Figura 3.17; en el panel (a) mostramos los perfiles de velocidad promedio  $\langle v \rangle$  y en el panel (b) los perfiles de la velocidad de corte  $\dot{\gamma}$  a lo largo de la dirección de confinamiento.

De la Figura 3.17(a), notamos que la velocidad promedio cerca de la superficie celular aumenta conforme aumenta la amplitud del movimiento oscilatorio y, conforme uno se aleja de la superficie celular el valor de la velocidad promedio decae al valor  $\langle v \rangle = v_0$  (línea discontinua), otro posible indicio de la distancia de propagación de la perturbación externa. La frecuencia aparenta ser relevante en el caso de amplitudes relativamente grandes, pues como vemos en la Figura 3.17, los perfiles correspondientes a la amplitud  $A = 4$  (símbolos azules) muestran comportamientos diferentes, en los cuales vemos que el sistema de alta frecuencia alcanza la velocidad  $v_0$  a una distancia más corta.

Usando la velocidad de corte (Figura 3.17(b)) y la fuerza tangencial promedio (Figura 3.15(b)) obtenemos los perfiles de viscosidad, mostrados en la Figura 3.18(a). La visco-



**Fig. 3.17:** (a) Perfiles de velocidad promedio y (b) perfiles de velocidad de corte de los sistemas de CECs *perturbados*. Los números se refieren a los sistemas mostrados en la Tabla 3.2. Las cantidades están en unidades reducidas DPD.

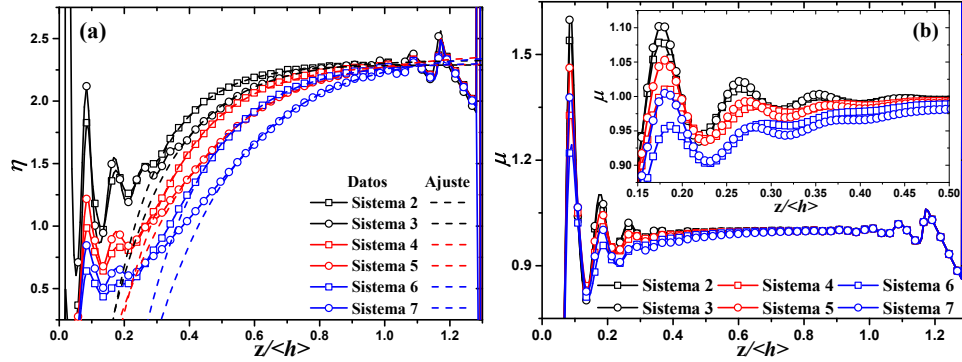
sidad decrece conforme amplitud del movimiento oscilatorio externo aumenta, y encontramos que el comportamiento cualitativo de los perfiles se ve afectado por la frecuencia. También encontramos que la magnitud de los perfiles de viscosidad en la región de *bulto* crece de manera exponencial de la forma mostrada en la ecuación 3.10, como podemos ver en la Figura 3.18(a), donde los ajustes están representados por las líneas discontinuas. En estos ajustes  $a = c'/\langle h \rangle$ , y ya que el sistema 2 es el mismo que utilizamos en la sección 3.2 (CEC  $\Gamma_1$ ), entonces  $c' = c\langle h \rangle/d$ . En la tabla 3.6 mostramos los parámetros  $\eta'_0$ ,  $c$  y  $b$  de la ecuación 3.10 para los ajustes realizados a los perfiles de viscosidad.

**Tabla 3.7:** Tabla de parámetros  $\eta'_0$ ,  $c$  y  $b$  de la ecuación 3.10 en unidades reducidas DPD, la cual fue utilizada para hacer un ajuste a los perfiles de viscosidad mostrados en la Figura 3.18.

Sistema	$\eta'_0$	$c$	$b$
2	2.29	88.5	1.85
3	2.33	62.7	1.58
4	2.30	67.8	1.74
5	2.39	45.9	1.42
6	2.31	65.6	2.11
7	2.39	48.9	1.95

Cuando aumentamos la amplitud del movimiento oscilatorio la fuerza tangencial promedio tiende a disminuir y la velocidad de corte aumenta como consecuencia del incremento de la velocidad de las cadenas, razón por la cual la viscosidad tiende a disminuir conforme el aumento de la amplitud de la perturbación. Por otro lado, al reducir la frecuencia, la fuerza de corte producida por la perturbación externa se disipa a distancias

más largas con respecto a la superficie celular, por lo que la velocidad de corte incrementa provocando un decremento en la viscosidad.



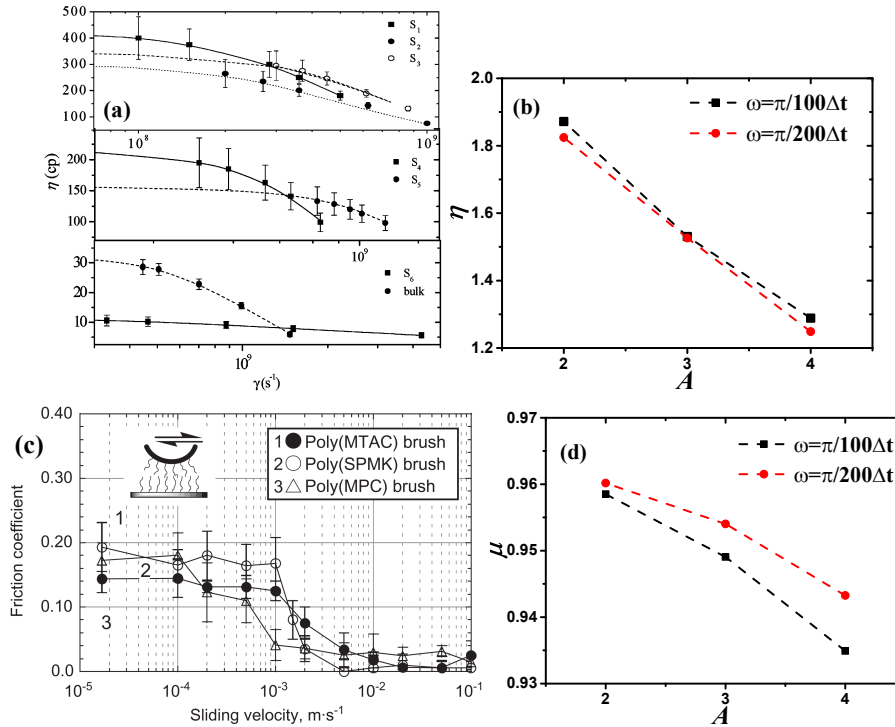
**Fig. 3.18:** (a) Perfiles de viscosidad y (b) perfiles del COF de los sistemas de CECs confinados, el recuadro mostrado en el panel b es una ampliación de la gráfica. Las curvas discontinuas representan el ajuste que corresponde a la ecuación (3.10). Los números de los sistemas corresponden a los mostrados en la tabla 3.4 y todas las cantidades mostradas en esta figura están en unidades reducidas DPD.

Por otra parte, en la Figura 3.18(b) podemos ver los perfiles del COF, los cuales han sido calculados al igual que en la sección 3.2.5 mediante la ecuación 3.11; los perfiles tienen un comportamiento cualitativo muy similar en todos los casos de frecuencias y amplitudes del movimiento oscilatorio externo, donde el valor del COF en unidades reducidas DPD en la región  $0.5 \lesssim z/\langle h \rangle \lesssim 1$  es  $\mu \approx 1$ , ya que en tal región  $\langle F_N \rangle \approx \langle F_T \rangle$ . Sin embargo, en la región  $0.5 \lesssim z/\langle h \rangle$  observamos que el valor del COF disminuye conforme la amplitud y la frecuencia aumenta. Es importante resaltar que anteriormente se ha reportado [105] que el aumento en la fuerza de corte, lo cual sería el equivalente al aumento en la amplitud  $A$  en nuestros sistemas, provoca un aumento en la componente perpendicular del tensor de presión de los cepillos. Este fenómeno es el resultado del incremento de la presión osmótica en la región donde el cepillo colapsa [96]. Debido a que el COF es calculado como lo expresa la ecuación 3.11, el incremento en  $P_N$  produce un decremento en el COF, lo cual concuerda con los datos mostrados en la Figura 3.18(b).

En la Figura 3.19 mostramos los valores de la viscosidad (panel b) y COF (panel d) de los sistemas en función de la amplitud. Estos valores fueron calculados utilizando el teorema del valor medio, los cuales encontramos que decaen al ir aumentando la amplitud del movimiento oscilatorio.

Los resultados de la viscosidad contrastan con aquellos reportados R. Krishnamoorti y E. P. Giannelis, quienes estudiaron la respuesta no-lineal de cepillos poliméricos injertados en nanocompositos de silicato estratificado bajo un flujo oscilatorio. Ellos encontraron

que la viscosidad de estos cepillos tiende a disminuir conforme la amplitud de la fuerza de corte oscilatoria disminuye y la frecuencia aumenta [106]. Mientras que la tendencia de la viscosidad encontrada en este trabajo concuerda con la reportada por H. Eslami y F. Müller-Plathe, quienes realizaron simulaciones de DM de cepillos poliméricos (oligómeros) [5]. Ellos reportan que, para diferentes sistemas de cepillos con diferentes densidades de injertos, la viscosidad decrece conforme la velocidad de corte,  $\dot{\gamma}$  (para más detalles revisar la Ref. [5]). Por otra parte, los resultados del COF muestran una tendencia que se ha observado antes en un estudio de propiedades tribológicas de cepillos poliméricos hidrofílicos realizado por M. Kobayashi y A. Takahara [6]. En donde reportan que el COF, de sistemas tipo cepillo compuestos por diferentes polímeros, tiende a disminuir conforme la velocidad de deslizamiento producida por una una carga (para más detalles revisar la Ref. [6]). En la Figura 3.19 mostramos las tendencias encontradas por los investigadores mencionados anteriormente, y aquellas encontradas en este trabajo.



**Fig. 3.19:** Tendencias de la viscosidad y el COF. En el panel a mostramos los resultados de viscosidad reportados por Eslami y Müller-Plathe [5] que muestran una tendencia similar a la encontrada en este trabajo (panel b). En el panel c mostramos los resultados de Kobayashi y Takahara [6] los cuales muestran una tendencia del COF que concuerda con la reportada en este trabajo. Más detalles en el texto principal. Las unidades de las gráficas (b) y (d) están en unidades reducidas DPD. Las líneas discontinuas solo son guías.

### 3.4. Perfiles de extremos libres

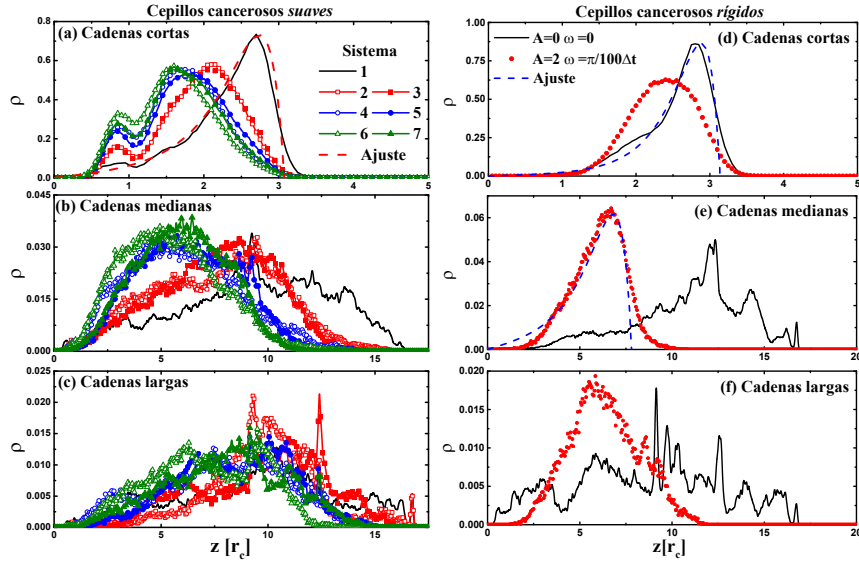
Además de los perfiles de densidad del cepillo, calculamos la distribución de extremos libres del cepillo. Estas distribuciones son una propiedad común en los estudios de cepillos poliméricos, los cuales pueden explicar los efectos generados por la perturbación externa. Si los cepillos están inmersos en un buen solvente y la densidad de injertos es alta, la teoría de escalamiento de Alexander - de Gennes predice que los extremos libres de los cepillos se encuentran al final del cepillo [96], encontrando así una distribución continua de los extremos libres de las cadenas con un máximo en la capa exterior del cepillo.

En la Figura 3.20 mostramos los perfiles de extremos libres de los cepillos cancerosos *suaves* (Figuras 3.20(a)-(c)) y *rígidos* (Figuras 3.20(d)-(f)) de todos los sistemas trabajados, separando las distribuciones de las cadenas cortas (paneles a y d), medianas (paneles b y e) y largas (paneles c y f). También mostramos los perfiles de extremos libres de los cepillos de las CENs en la Figura 3.21.

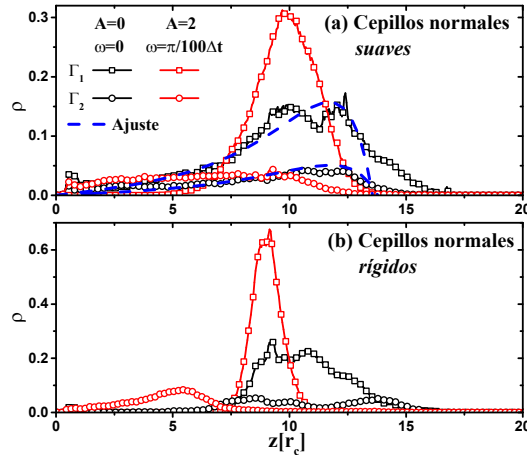
Cuando los cepillos de CECs se encuentran en equilibrio, i.e. sin perturbación externa, los extremos libres de las cadenas cortas tienen un máximo en la capa exterior del cepillo corto (curvas continuas de  $A = 0$  en la Figura 3.20(a) y(d)), mientras que los extremos de las cadenas medianas y largas tienen una distribución irregular diferente de cero desde puntos cercanos a la superficie celular (curvas continuas de  $A = 0$  en la Figura 3.20(b), (e) y (c), (f), respectivamente). Cuando la perturbación oscilatoria externa es aplicada, las distribuciones de los extremos libres se vuelven simétricas alrededor de su máximo, en donde dicho máximo aparece en distancias más cercanas a la superficie celular conforme aumentamos la amplitud de oscilación (en el caso de los cepillos cancerosos *suaves*). La rigidez de las cadenas es la responsable de la simetría en forma de campana de las distribuciones de los extremos libres, que se da en el caso de cadenas *suaves* (Figuras 3.20(a)-(c)); teniendo una forma de pico para las cadenas más rígidas (Figuras 3.20(d)-(f)). En los resultados obtenidos para los extremos libres de los cepillos cancerosos *suaves* (Figura 3.20(a)-(c)), al igual que en los perfiles de densidad (Figura 3.13), la frecuencia aparenta jugar un papel secundario.

Por otra parte, los extremos libres de los cepillos normales bajo la influencia del movimiento oscilatorio (curvas rojas en la Figura 3.21), muestran una distribución más estrecha y, al igual que en el caso de los cepillos cancerosos, más simétrica alrededor de su máximo. Caso contrario al de sus contrapartes en equilibrio ( $A = 0$ ). Encontramos también que la distribución de los extremos libres es más estrecha cuando la densidad de injertos es más alta (cuadros rojos en la Figura 3.21). Estas tendencias concuerdan con los resultados de simulaciones de Monte Carlo de cepillos poliméricos injertados en una superficie plana [107].

Las curvas discontinuas de las Figuras 3.20(a) (curva roja), 3.20(d)-(e) y 3.21(a) (cur-



**Fig. 3.20:** Distribuciones de los extremos libres de las cadenas que conforman los cepillos cancerosos *suaves* (a)-(c) y *rígidos* (d)-(f). Mostramos las distribuciones separadas por el tamaño de las cadenas; cortas (a) y (d), medianas (b) y (e), y largas (c) y (f). Las curvas punteadas son el ajuste hecho mediante la ecuación 3.12



**Fig. 3.21:** Distribuciones de los extremos libres de las cadenas que conforman los cepillos normales *suaves* (a) y *rígidos* (b), en equilibrio ( $A = 0$ ) y bajo la influencia del movimiento oscilatorio externo ( $A = 2$ ,  $\omega = \pi/100\Delta t$ ), y a las dos diferentes densidades de injertos usadas ( $\Gamma_1 = 1.0225$  cadenas/unidad de área y  $\Gamma_2 = 0.325$  cadenas/unidad de área).

vas azules) son ajustes a la predicciones de la teoría de campo autoconsistente para cadenas poliméricas injertadas dentro de una solución con polímeros libres [108], los cuales fueron generados por la siguiente ecuación [109]:

$$\rho_{ends}(z) = Cz \left( \sqrt{z-h} \right) e^{-k^2(h^2-z^2)} \Theta(z-h). \quad (3.12)$$

En la ecuación 3.12  $C$ ,  $h$  y  $k$  son parámetros que determinan la altura del distribución de extremos libres, el grosor promedio y la fuerza de decaimiento, respectivamente, en donde la parte de mayor peso en la función es representada por  $\Theta$ . Encontramos que la ecuación 3.12 es consistente con nuestras predicciones de los cepillos no perturbados. Para los cepillos perturbados por el movimiento oscilatorio externo, la ecuación 3.12 ajusta de forma razonable en algunos casos, como mostramos en la Figura 3.20(e). Sin embargo, se vuelve extremadamente difícil encontrar un buen ajuste a medida que la amplitud del movimiento oscilatorio externo es aumentado, por lo que recomendamos usar la ecuación únicamente para las distribuciones de los extremos libres en equilibrio.

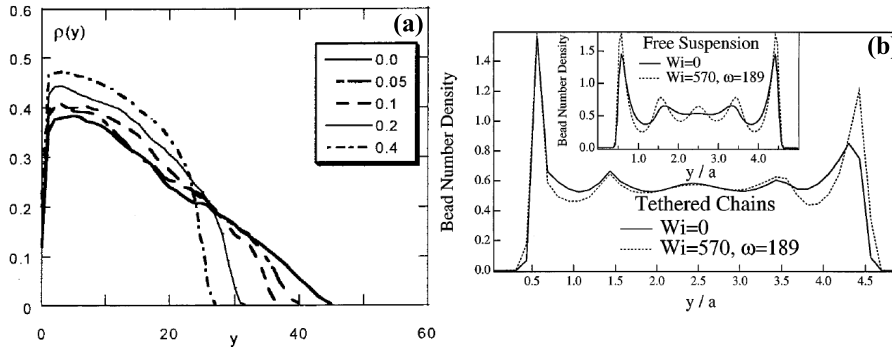
### 3.5. Conclusiones

Encontramos que el grosor promedio de los cepillos *suaves* de CECs decrece linealmente conforme aumentamos la amplitud del movimiento oscilatorio. Esta tendencia ha sido encontrada en trabajos donde la intensidad de la fuerza de corte es modificada. En la Figura 3.22 mostramos un par de gráficos obtenidos de los trabajos hechos por P. S. Doyle *et al.* [8] y M. G. Saphiannikova *et al.* [7]. Mientras que el cambio en la frecuencia aparenta no tener efecto en el cálculo del grosor promedio del cepillo, lo cual evidencia que el sistema no cuenta con el tiempo suficiente para responder a la inversión en la fuerza de corte generada por el movimiento oscilatorio inducido a la superficie [100].

La tensión interfacial se vio incrementada de forma exponencial conforme a la amplitud en el rango de  $2 \leq A \leq 4$  para las dos frecuencias modeladas en este trabajo, siendo más grande para los cepillos de CECs que para los normales como resultado del incremento en la presión osmótica. Desde que la tensión interfacial aumenta conforme el grosor de la interfaz disminuye, es razonable que el decremento del grosor promedio del cepillo esté acompañado con un incremento en la tensión interfacial conforme la amplitud de la perturbación oscilatoria externa aumenta.

Los resultados de las simulaciones muestran que la viscosidad de los cepillos cancerosos es menor que la de los normales cuando la proporción en la densidad de injertos que diferencia entre uno y otro es tomada en cuenta [4]. Además, la viscosidad de los cepillos compuestos por cadenas más rígidas es menor que la de los cepillos *suaves*, considerando el caso de una densidad de injertos relativamente alta, mientras que a una densidad de injertos baja, se observe un tendencia inversa. Adicionalmente, la viscosidad de los cepillos





**Fig. 3.22:** La gráfica (a) son perfiles de densidad de sistemas de cepillos bimodales a diferentes intensidades de fuerza de corte, las cadenas tienen una diferencia de longitudes relativa de 0.625 y una densidad de injertos adimensional de 0.1 cadenas por unidad de área. La gráfica (a) pertenece al trabajo de M. G. Saphiannikova *et al.* [7]. La gráfica (b) pertenece al trabajo de P. S. Doyle *et al.* [8], y son perfiles de densidad de cepillos comprimidos en equilibrio (curva discontinua) y bajo la influencia de un flujo oscilatorio (curva continua). El recuadro de la figura (b) son perfiles de sistemas de suspensiones de esferas libres bajo un flujo oscilatorio.

de CECs decrece linealmente conforme aumenta la amplitud del movimiento oscilatorio externo, y los cepillos de CENs muestran una menor viscosidad cuando la densidad superficial de injertos es grande. Estos resultados contrastan con los encontrados para cepillos poliméricos bajo un flujo estacionario [94], debido a que en un flujo oscilatorio los cepillos no pueden relajarse lo suficientemente rápido para que la fuerza tangencial responda al incremento en la densidad de injertos antes de que haya un cambio en la dirección del flujo [100].

Así como en la tribología de cepillos, el coeficiente de fricción (COF) disminuye cuando la amplitud y la frecuencia del movimiento oscilatorio aumenta. La diferencia entre los cepillos mono- y polidispersos se vuelve más notable cerca de la superficie de la superficie donde las cadenas están injertadas; lo cual también es consecuencia del incremento de la presión osmótica en la región donde el cepillo colapsa [96]. En general, encontramos un COF más bajo en los cepillos normales con una alta densidad de injertos [94].

En cuanto a los perfiles de extremos libres, encontramos que las distribuciones de los extremos libres en equilibrio son altamente asimétricas. Una vez que el movimiento oscilatorio es aplicado a la superficie, los cepillos además de colapsar hacia la superficie, vuelven a las distribuciones de extremos libres más simétricas [7, 99].

Estas tendencias contrastantes entre los modelos de cepillos de CENs (monodispersos) y CECs (polidispersos) pueden ser indicadores que ayuden a conocer la naturaleza de los cepillos que se encuentran en la superficie de células humanas. También pueden

ser útiles como herramientas que ayuden al diagnóstico del cáncer en células epiteliales, debido a que la dispersión en la longitud de las cadenas y la densidad de injertos son parámetros que deben de ser tomados en cuenta para la caracterización de superficies de células epiteliales.

Nuestros resultados muestran que el uso de la metodología propuesta en este capítulo puede ser de mucha ayuda para el entendimiento de otros sistemas biológicos que estén representados por estructuras tipo cepillo, así como otros sistemas que tengan aplicaciones industriales o tecnológicas [110]. Demostrando que, además de poder encontrar tendencias y resultados que ya han sido reportados, podemos estudiar más a detalle estos sistemas a través de los perfiles de sus propiedades mecánicas y reológicas. Esto nos puede ayudar a tener una mejor idea sobre los fenómenos biológicos y llegar a dar interpretaciones de naturaleza física.

## *IV*

---

### *Propiedades Geométricas*

En este capítulo presentamos un estudio sobre la fractalidad y la lagunaridad que emergen de las imágenes topográficas de cepillos de CECs y CENs obtenidas por simulaciones hechas mediante el método de DPD, usando una superficie curva que confina a los cepillos asemejando la superficie de una punta de un AFM. Hemos hecho un estudio variando la calidad del solvente que representa el medio en el cual se encuentran los cepillos. Además, variamos la calidad de las imágenes obtenidas, encontrando una correlación entre el error estándar de la dimensión fractal calculada y la calidad de la imagen; así como entre la pendiente de la curva de lagunaridad y la calidad de la imagen, la cual también está relacionada directamente con la dimensión fractal de las imágenes.

### 4.1. Introducción

Con el objetivo de encontrar una explicación física al comportamiento no-lineal que uno puede encontrar en la naturaleza, el uso del concepto "fractal" que fue introducido por B. Mandelbrot [46], se ha vuelto recurrente desde su inclusión. Sabemos que un objeto geométrico puede ser caracterizado por su dimensión topológica (1 - línea, 2 - plano, 3 - volumen). La dimensión de los objetos geométricos fractales yace entre dichas dimensiones, donde una curva fractal tiene una dimensión entre los valores de 1 y 2, y una superficie fractal tiene una dimensión entre los valores de 2 y 3. En el área de fisiología, el uso de los fractales tiene aproximadamente tres décadas [111, 112], ayudando así al análisis de los patrones complejos que pueden ser encontrados en la actividad neuronal y cardíaca [113–116], en redes arteriales y de vasos sanguíneos [117–120] y en árboles bronquiales [121, 122], por mencionar unos ejemplos.

El uso del análisis fractal también se ha extendido hacia el análisis de imágenes de muestras biológicas. Mucha de la investigación relacionada con el análisis fractal de imágenes en el ámbito de la fisiopatología médica, se ha enfocado en correlacionar la dimensión fractal (DF) que emerge de las *estructuras o patrones* vistos en las imágenes de las muestras, con la *salud* de dichas muestras, con el fin de brindar información que apoye a la investigación médica hasta llegar a proponer nuevas alternativas de diagnóstico no invasivas. Entre la extensa investigación en este campo, existen resultados importantes que correlacionan la DF con el cáncer [9, 38–45]; diversos estudios a *macro-* y *micro-escala* llevados a cabo en diversos tipos de células, como de colon [40], de mama [41, 42], de piel [43], del cuello uterino [9, 44], inclusive en células de glóbulos blancos [45], establecen que existe una diferencia entre la DF de una célula cancerosa y una célula normal. De forma específica, los resultados han servido para distinguir cualitativamente entre una célula sana y cancerosa [9, 40, 41, 45], definir una relación con el crecimiento tumoral [42, 123], rastrear la progresión del cáncer [44] y medir el grado de invasión de células cancerosas [124]. La DF de las imágenes puede ser estimada de diversas maneras, por ejemplo: por el método de conteo de cajas, métodos de correlación, análisis de Fourier, entre otros [125, 126].

A pesar del conocimiento actual de los mecanismos moleculares y fisiopatológicos del cáncer, es bien sabido que la imagenología clínica es un método imprescindible y altamente usado por médicos para generar un diagnóstico. Es por esto que la implementación del análisis fractal en este ámbito podría resultar ser una gran herramienta que contribuya a generar un diagnóstico veraz. Aquí es donde la técnica de AFM resultaría provechosa, pues ésta ha sido utilizada en investigaciones relacionadas al cáncer como una herramienta para caracterizar propiedades mecánicas de células cancerosas y sanas con el fin de discriminar entre una y otra [4, 84, 127, 128]. Recientemente, la AFM se ha usado para obtener imágenes de la topografía y mapas de adhesión de células epiteliales cervicales

*individuales*, calculando la DF de éstas mediante el análisis de Fourier [9, 44]. Generalmente, los objetos fractales (curvas o superficies) tienen una propiedad básica llamada autosimilitud o autoafinidad [129], la cual nos indica que los patrones geométricos del objeto fractal se repiten de forma similar a diferentes escalas. Cuando el escalamiento es igual en las 3 dimensiones euclidianas, decimos que el objeto es autosimilar. Si el escalamiento en las direcciones normales es diferentes al de las direcciones laterales, entonces el objeto es autoafin. Se sabe que la mayoría de las imágenes superficiales obtenidas por el método de AFM son autoafines (si es que son fractales) [130].

Los estudios relacionados con la fractalidad de células sanas y cancerosas muestran que la DF de las muestras cancerosas tiende a ser mayor que la de sus contrapartes sanas; algunas especulaciones sobre la diferencia en la DF calculada entre los dos tipos de células, aluden a que es causada por las diferentes características topográficas de los 'cepillos' que recubren la superficie celular de cada una. Este cepillo que recubre a la superficie de la célula está compuesto por moléculas (microvellosidades, cilios, microtúbulos) atadas a la superficie celular; los resultados adquiridos por la técnica de AFM demuestran que la respuesta mecánica de dichos cepillos puede ser medida de forma independiente a la respuesta mecánica de la superficie de la célula [4]. También se muestra que la composición estructural de los cepillos de células epiteliales cervicales normales y cancerosas es substancialmente diferente entre ellos. Por ejemplo, en la Ref. [4] se demuestra que los cepillos de las CENs pueden ser considerados como un arreglo de una longitud característica, mientras que los cepillo de las CECs muestran que tienen por lo menos dos longitudes características; además de que la densidad de injertos también varía para cada tipo de cepillo.

La lagunaridad ( $\Lambda$ ) es un concepto introducido por Mandelbrot [46], como medida de la distribución de 'huecos' en una imagen; la lagunaridad mide qué tan alejado está un objeto geométrico de la invariancia translacional u homogeneidad [131]. La lagunaridad es una medida diseñada para asistir al análisis fractal en caso de que existan imágenes con dimensiones fractales similares. Los objetos con baja lagunaridad tienden a ser homogéneos y traslacionalmente invariantes debido a que el tamaño de sus huecos es igual, mientras que los objetos con alta lagunaridad tienden a ser heterogéneos y son variantes traslacionalmente debido a la irregularidad en el tamaño de sus huecos [132].

Este concepto se ha extendido hacia el campo de la medicina, en específico de la imagenología clínica, en donde se ha utilizado para cuantificar diferencias morfológicas en estudios de imágenes citológicas de nucléolos de células epiteliales de cáncer de mama [133], identificar regiones de interés en imágenes de cáncer de prostata [134], así como una medida para discriminar líneas de células cancerosas [135]. El uso conjunto de la DF y la lagunaridad en el campo de la medicina y la biología celular es recurrente cuando se quiere cuantificar ciertas características de imágenes texturizadas, [126, 136, 137], por lo que nos unimos a aquellos que sostienen que el uso del análisis fractal puede llegar a ser

una herramienta poderosa para la detección del cáncer o la progresión de éste.

## 4.2. Detalles computacionales

En este capítulo hemos usado los dos tipos de modelos de cepillos mencionados en la sección 2.3, los monodispersos y los tridispersos, que representan a los cepillos de recubren a una célula epitelial sana y a una cancerosa [4], respectivamente. La composición de las cadenas de los cepillos es la misma que mencionamos en la subsección 3.2.1.

Para controlar la rigidez de las cadenas que componen a los cepillos usamos la ecuación 2.30, usando los valores de  $k_\theta$  que utilizamos en el capítulo anterior. Estos cepillos han sido confinados por dos superficies en la dirección  $z$ . Usamos una superficie cuadrada efectiva representada por una fuerza linealmente decaiente y unidireccional, como se muestra en la ecuación 2.31, como modelo de la superficie celular; también usamos una superficie explícita con radio de curvatura  $R = 0.8 l_x$  hecha por partículas DPD para representar la superficie de una punta de AFM. La interacción entre la punta y las partículas de solvente y cepillo se da mediante la fuerza conservativa DPD (ecuación 2.2). La distancia mínima entre la superficie celular y la superficie de la punta del AFM fue fijada en  $d = 10 r_c$  (ver Figura 2.6).

La interacción que tiene el cepillo con el solvente ha sido modificada de tal manera que tenemos dos medios distintos, uno donde las interacciones cepillo-solvente son relativamente de menor intensidad y uno donde éstas son más intensas, recordando que la fuerza conservativa DPD es repulsiva. Este cambio de intensidad actúa de tal manera que podemos considerar que tenemos un solvente de *buena calidad* y otro de *mala calidad*. La motivación para considerar la diferente calidad del solvente surge de estudios experimentales de células epiteliales cervicales humanas; en los cuales reportan la DF, de imágenes obtenidas mediante AFM, de células liofilizadas [9]. En tal caso, el ambiente actúa como un mal solvente sobre los cepillos, puesto que éstos se encuentran fuera de su ambiente natural. En la tabla 4.1 mostramos los parámetros de interacción de las fuerzas conservativas de los sistemas entre las distintas especies particulares.

Estos sistemas cuentan con condiciones de periodicidad en las direcciones  $x$  y  $y$ , mientras que en la dirección  $z$  se han omitido debido a que es la dirección de confinamiento. Las dimensiones de la caja de simulación para todos los sistemas son de  $l_x = l_y = 20 r_c$  y  $l_z = 26 r_c$ . El volumen y el número de partículas DPD de los sistemas utilizados en este capítulo, son los mostrados en la tabla 3.1 para los cepillos *confinados* de CECs  $\Gamma_1$  y CENs  $\Gamma_2$ . Las corridas han sido hechas en dos etapas, la etapa de termalización y la etapa de producción. La etapa de termalización se llevó a cabo en  $5 \times 10^4$  pasos de tiempo, con un diferencial de tiempo  $\Delta t = 0.01 \tau$ , mientras que en la etapa de producción se llevó a cabo en  $2 \times 10^5$  pasos de tiempo con un diferencial de tiempo  $\Delta t = 0.03 \tau$ .

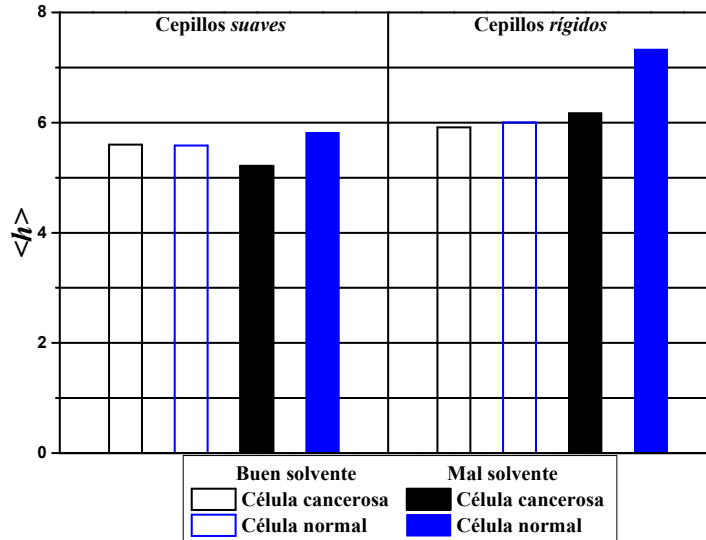
**Tabla 4.1:** Tabla de los parámetros de interacción de la fuerza conservativa DPD y a la fuerza de la superficie efectiva (ecuación 2.31) en unidades reducidas DPD. Los valores entre paréntesis corresponden a los sistemas con *mal* solvente. **S** = Solvente, **H** = Cabeza de la cadena, **T** = Cola de la cadena, **AFM** = Superficie de la punta del AFM y **C** = Superficie de la célula.

$a_{ij}$	<b>S</b>	<b>H</b>	<b>T</b>	<b>AFM</b>	<b>C</b>
<b>S</b>	78	79.3(85)	79.3(85)	140	100
<b>H</b>	79.3(85)	78	78	140	60
<b>T</b>	79.3(85)	78	78	140	100
<b>AFM</b>	140	140	140	78	0*
<b>C</b>	100	60	100	0*	0**

\*debido a que la distancia es entre las partículas DPD de la punta del AFM y la superficie de la célula es mayor que la distancia de corte; \*\*debido a que es una superficie efectiva

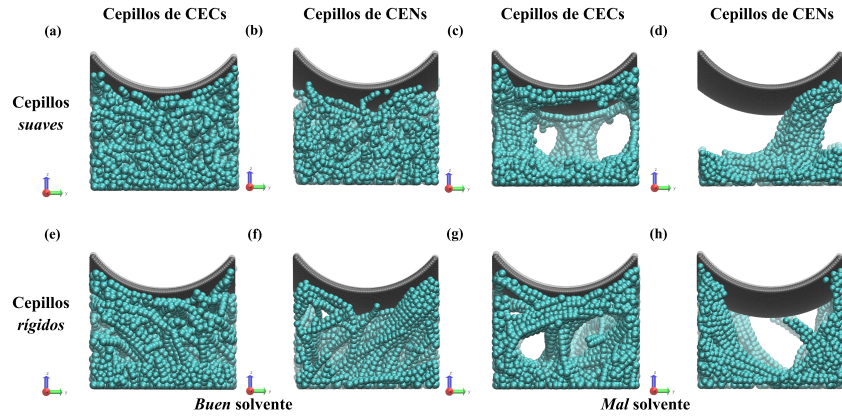
### 4.3. Grosor promedio $\langle h \rangle$

Hemos calculado el grosor promedio  $\langle h \rangle$  de los cepillos pericelulares *suaves* y *rígidos* de los células con una *buen*a y *mala* calidad del medio. La forma en la cual se calculó  $\langle h \rangle$  se ha detallado en la sección 3.2.2, donde  $\langle h \rangle$  lo obtenemos calculando el primer momento de la función de concentración del cepillo (ecuación 3.6). Los valores del grosor promedio de los cepillos de cada sistema diseñado los mostramos en la Figura 4.1.



**Fig. 4.1:** Grosor promedio de los cepillos *suaves* y *rígidos* de las CENs y CECs en *buen* y *mal* solvente. Los valores están en unidades reducidas DPD.

Encontramos que el grosor promedio de los cepillos se ve afectado por la calidad del solvente, y que tales efectos son diferentes entre el tipo de cepillo y su rigidez. Notamos que el grosor promedio de los cepillos de CENs aumenta  $\sim 4.21\%^\dagger$  cuando cambiamos la calidad del solvente de *buen* a *mal*, siendo más notable el aumento para los cepillos rígidos,  $\sim 22.07\%^\dagger$ . Para los cepillos de CECs, encontramos un efecto inverso entre cepillos suaves y rígidos al cambiar el solvente de buena a mala calidad; en donde  $\langle h \rangle$  disminuye  $\sim 6.91\%^\dagger$  en el caso de poca rigidez y aumenta  $\sim 4.41\%^\dagger$  en el caso de alta rigidez. También encontramos que el grosor promedio de los cepillos suaves de CENs y CECs en buen solvente es de  $\langle h \rangle \approx 5.6 r_c$ , mientras que el de los cepillos rígidos es de  $\langle h \rangle \approx 6.1 r_c$ . En la Figura 4.2 mostramos imágenes de los cepillos confinados por una superficie curva que representa la superficie de la punta del AFM.



**Fig. 4.2:** Vista lateral de los cepillos. La superficie hecha por partículas DPD de color gris representa la superficie de la punta del AFM. El solvente ha sido obviado para una mejor visualización.

#### 4.4. Dimensión fractal (DF)

En esta sección presentamos los resultados obtenidos del cálculo de la DF para las imágenes topográficas de los cepillos cancerosos y normales modelados en este trabajo, variando la calidad del medio en el que los cepillos se encuentran y la rigidez de las cadenas que componen a los cepillos. Para obtener las imágenes topográficas de los sistemas, seguimos el procedimiento que mostramos a continuación; el cual, nos permite elegir la resolución de la imagen.

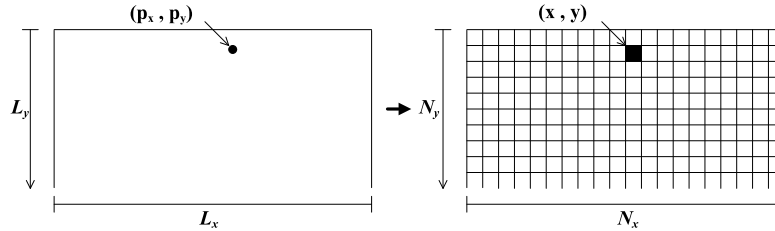
a) Primero, escogemos el *frame* del sistema sobre el cual trabajaremos. Dado que las partículas DPD técnicamente son puntos en el espacio que representan el centro de

<sup>†</sup>Porcentaje relativo al grosor promedio del cepillo en buen solvente.



masa de éstas, generamos una arreglo de alturas que contiene el valor de la posición en  $z$  (que físicamente representa la altura en este caso) de cada partícula DPD de la especie correspondiente a las cadenas que conforman los cepillos. Así, la  $i$ -ésima partícula de la especie que corresponde a las cadenas de los cepillos, dependerá de su posición en  $x$  y  $y$  ( $p_x, p_y$ ).

b) Después, cambiamos los valores de las alturas dependientes de las posiciones ( $p_x, p_y$ ) a un sistema discreto  $(x, y)$ , en donde  $x = p_x * (N_x/L_x)$  y  $y = p_y * (N_y/L_y)$ , igualando cada coordenada al entero positivo más cercano por la derecha y siendo  $N_x \times N_y$  la resolución (i.e. el número de píxeles) de la imagen en la dirección  $x$  y  $y$ . En este trabajo escogimos valores de  $N_x = N_y$  debido a que usaremos la Transformada Rápida de Fourier en 2D (2D-FFT). En la Figura 4.3 mostramos una representación simplista de la transformación de posiciones ( $p_x, p_y$ ) a píxeles  $(x, y)$ .



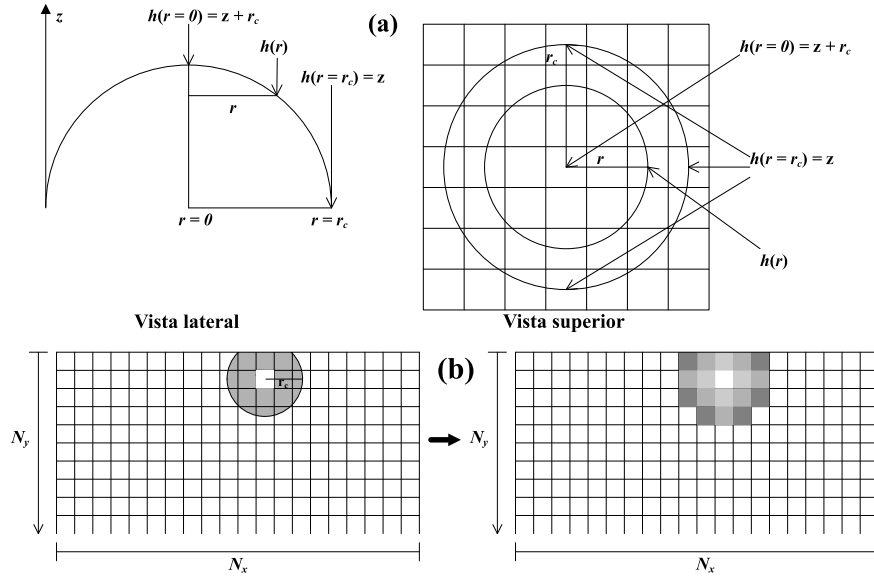
**Fig. 4.3:** Bosquejo simplista para mostrar la asignación de coordenadas en el mapa de píxeles a cada partícula DPD, en donde  $L_x$  y  $L_y$  son las longitudes de la imagen en las direcciones  $x$  y  $y$ ,  $N_x \wedge N_y \in \mathbb{N}$  son los números de píxeles en sus respectivas direcciones.

c) Ya que cada punto (partícula DPD) del sistema tenga su coordenada en el mapa de píxeles, asignamos la dimensión a cada uno. Sabiendo que  $r_c$  es el radio de una partícula DPD, el tamaño de la partícula en píxeles se puede encontrar al conocer a cuántos píxeles equivale una unidad de  $r_c$  a través de la siguiente relación:  $1[r_c] = N_x/L_x[\text{píxeles}]$ . Entonces, sabiendo cuántos píxeles ocupa una partícula DPD, le asignamos el valor de la altura a cada uno usando la siguiente ecuación:

$$h(r) = z(x, y) + [r_c^2 - r^2]^{1/2}, \quad (4.1)$$

donde  $z(x, y)$  es el valor de la altura del píxel  $(x, y)$ . En la Figura 4.4 mostramos la representación esquemática de la ecuación 4.1.

En la Figura 4.5 mostramos las imágenes obtenidas a través de la metodología mencionada anteriormente. Están en una escala de grises, la cual representa la altura del cepillo, siendo el color negro una altura igual a cero (superficie de la célula) y el blanco la altura máxima a la que se encuentra el monómero del cepillo más alejado de la superficie



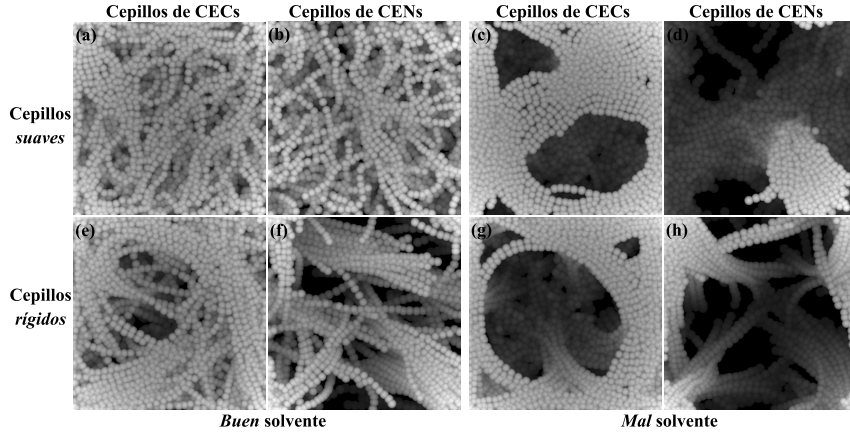
**Fig. 4.4:** (a) Representación esquemática de la altura para una partícula DPD en función de la distancia  $r$ , donde  $r \in [0, r_c]$ , siendo  $r_c$  el radio de la partícula. (b) Altura de una partícula DPD en el mapa de píxeles; la intensidad de los píxeles rellenos representa la magnitud de la altura. En este bosquejo el blanco representa la intensidad mayor y el negro la intensidad menor.

de la célula. La resolución de las imágenes de la Figura 4.5 es la más alta con la que trabajamos ( $1024 \times 1024$  píxeles); en el apéndice A (Figura A.1), mostramos las imágenes de todos los sistemas modelados en las demás resoluciones ( $512 \times 512$ ,  $256 \times 256$  y  $128 \times 128$  píxeles).

Una vez obtenidas las imágenes topográficas de los cepillos, calculamos la 2D-FFT a cada imagen con la siguiente ecuación:

$$F(u, v) = \frac{\sum_{x=0}^{N_x-1} \sum_{y=0}^{N_y-1} z(x, y) \exp \left[ -i2\pi \left( \frac{ux}{N_x} + \frac{vy}{N_y} \right) \right]}{N_x N_y}, \quad (4.2)$$

en donde  $N_x = N_y$  son el número de píxeles en la dirección  $x$  y  $y$ , respectivamente,  $z(x, y)$  es la magnitud de la altura en el píxel  $(x, y)$ , y  $u$  y  $v$  son los índices de Fourier y van desde 0 hasta  $N_x-1$  y  $N_y-1$ , respectivamente. Después hay que transformar la función  $F(u, v)$  en coordenadas polares y obtener una función  $A(Q)$  promediada sobre los ángulos polares  $\varphi \in [0, 180]$  para evitar los efectos inducidos por la direccionalidad de la imagen [9, 10]



**Fig. 4.5:** Imágenes de la topografía de los cepillos pericelulares a las que se les calculó la DF. La resolución de estas imágenes es de  $1024 \times 1024$  píxeles.

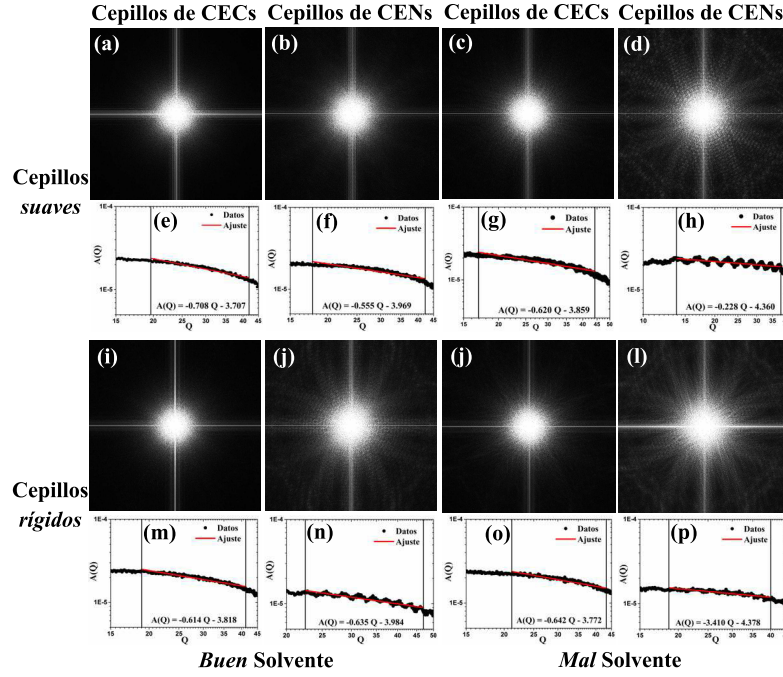
$$A(Q) = 1/\pi \int_0^\pi F(Q \cos \varphi, Q \sin \varphi) d\varphi, \quad (4.3)$$

siendo  $Q$  el inverso de la longitud lateral ( $L^{-1}$ ) de las imágenes de los cepillos. En este trabajo usamos imágenes de  $L_x = L_y = 14$  nm, lo que nos lleva a tener un valor mínimo de  $Q_{min} \approx 0.071 \text{ nm}^{-1}$  y un valor máximo de  $Q_{max} = N/14 \text{ nm}$ , siendo  $N$  el número de píxeles de la imagen (128, 256, 512 o 1024).

La fractalidad del sistema se identifica con un comportamiento lineal de la función  $A(Q)$  en escala log-log ( $A(Q) \propto Q^b$ ), ajustando una recta de la siguiente forma

$$\log(y) = b \log(Q) + \log(a). \quad (4.4)$$

Cabe mencionar que en principio, el concepto de fractal involucra el hecho de encontrar los mismos patrones estructurales o geométricos sobre cualquier escala de magnificación. Sin embargo, en la naturaleza, llegar a órdenes de magnificación extremadamente altos o bajos es prácticamente imposible; debido a esta conjetura empírica, es necesario considerar o establecer rangos de escalas donde la fractalidad es observada. En los métodos de imagenología, estos rangos están restringidos por la resolución de la imagen, en donde la longitud característica mínima de cualquier imagen sería el tamaño de un píxel. En nuestro caso, escogimos un rango de escalas que están dentro del grado de refinamiento utilizado para modelar los sistemas. En la Figura 4.6 mostramos los espectros de frecuencias correspondientes a las imágenes topográficas de la Figura 4.5 junto con las curvas  $A(Q)$  (ecuación 4.3) obtenidas para cada espectro de frecuencias.



**Fig. 4.6:** Imágenes de la 2D-FFT ((a)-(d); (i)-(l)) correspondientes a las imágenes de la Figura 4.5 con sus respectivas curvas  $A(Q)$  ((e)-(h); (m)-(p)). Las líneas rojas de estas últimas representan los ajustes de la región delimitada por las líneas horizontales negras, la ecuación de cada ajuste viene en la parte inferior de su respectiva gráfica. La intensidad de las imágenes de la 2D-FFT están normalizados con la intensidad máxima de cada imagen. Para fines de visualización la intensidad máxima (color blanco) en cada imagen fue reducida a 0.0001. La tabla 4.2 muestra los valores de la intensidad mínima (color negro) de las imágenes (a)-(d); (i)-(l).

La DF  $\alpha$ , se obtiene mediante la siguiente ecuación [9, 10]

$$\alpha = 2 - b, \quad (4.5)$$

donde  $\alpha$  está restringido por las dimensiones euclidianas del sistema [46], esto significa que el valor mínimo es  $\alpha = 2$  y el valor máximo  $\alpha = 3$ . El valor mínimo significa que el cepillo forma una superficie ideal plana, *i. e.* rugosidad igual a cero, y el valor máximo significaría que los cepillos se encuentran distribuidos sobre el espacio de tal manera que uno encontraría una rugosidad infinita [9].

En la Figura 4.7, mostramos los resultados de la DF de los modelos de cepillos *suaves* y *rígidos* a diferente resolución de imagen. Nuestros resultados son consistentes con las tendencias reportadas en estudios experimentales de células cancerosas que muestran una

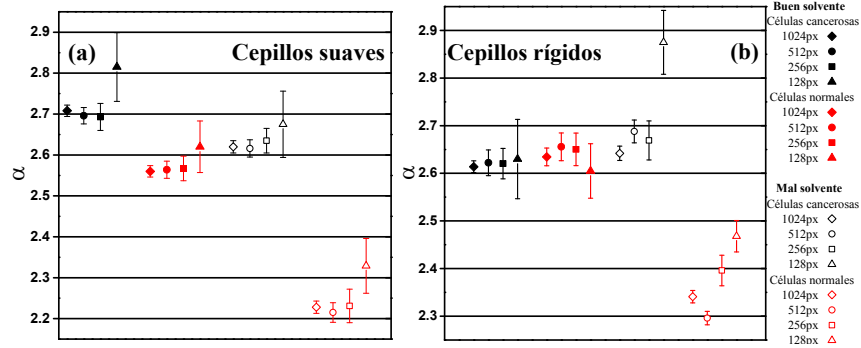
DF más alta que sus contrapartes sanas [9, 44, 45]. Los resultados que obtuvimos para los cepillos *suaves* (Figura 4.7(a)), muestran que la diferencia en la DF entre CENs y CECs se vuelve más significativa cuando los cepillos se encuentran en un medio desfavorable para su expansión. Nuestras predicciones para cepillos suaves nos indican que la DF de éstos está en el rango de  $2.2 < \alpha < 2.8$  lo cual concuerda con el trabajo de Dokukin *et al* [9], que encuentra valores en el rango de  $2 < \alpha < 2.6$ .

La DF de los cepillos *suaves* de las células cancerosas bajo condiciones de buen solvente (Figura 4.5(a)) es mayor que la de los cepillos bajo condiciones de mal solvente (Figura 4.5(c)); observando la misma tendencia para los cepillos *suaves* de las células normales (Figuras 4.5(b) y 4.5(d)). De la Figura 4.5, notamos que los cepillos en condiciones de mal solvente tienden a colapsar hacia la superficie de la célula. el hecho de que la DF de los cepillos cancerosos sea mayor que la de los cepillos sanos se vuelve más evidente bajo condiciones de mal solvente debido a que en un buen solvente las cadenas se distribuyen de forma más homogénea dentro del espacio que confina la superficie celular y la punta del AFM (como apreciamos en las Figuras 4.5(a) y 4.5(b)). En contraste con los cepillos en condiciones de mal solvente, los extremos de las cadenas que conforman al cepillo forman estructuras tipo hongo y son desplazados hacia las paredes del sistema (en este caso la superficie de la célula y la punta del AFM) debido a que las interacciones repulsivas entre el solvente y el cepillo son relativamente más altas (ver Figura 4.5(c) y 4.5(d)).

**Tabla 4.2:** Tabla de valores de la intensidad mínima (color negro) de las imágenes de la 2D-FFT (Figura 4.6(a)-(d); 4.6(i)-(l)).

	<i>Buen solvente</i>		<i>Mal solvente</i>	
	Cepillos de CECs	Cepillos de CENs	Cepillos de CECs	Cepillos de CENs
<b>Cepillos <i>suaves</i></b>	$1.95 \times 10^{-9}$	$8.13 \times 10^{-9}$	$7.61 \times 10^{-9}$	$1.59 \times 10^{-8}$
<b>Cepillos <i>rígidos</i></b>	$8.46 \times 10^{-9}$	$1.37 \times 10^{-8}$	$5.19 \times 10^{-9}$	$4.24 \times 10^{-8}$

Por otra parte, las predicciones de la DF para los cepillos *rígidos* (Figura 4.7(b)) muestra una tendencia que contrasta con la de los cepillos *suaves* (Figura 4.7(a)). Bajo condiciones de buen solvente la DF de los cepillos más rígidos de las células cancerosas y sanas es prácticamente la misma ( $2.6 \lesssim \alpha \lesssim 2.65$ ), con pequeñas variaciones debidas a la resolución de la imagen. Esto es el resultado del dominio de las interacciones angulares entre tres cuerpos de las cadenas que conforman los cepillos, sobre las estructuras de éstos (Figuras 4.7(e) y 4.7(f)), debido a que en condiciones de buen solvente, las interacciones conservativas DPD entre las cadenas y el solvente (2.2) por definición son más pequeñas que las interacciones angulares a lo largo de las cadenas (2.30), por lo que las imágenes son insensibles al grado de polimerización como podemos ver en las Figuras 4.7(e) y



**Fig. 4.7:** Dimensión fractal de las imágenes topográficas de los modelos de cepillos *suaves* (panel a) y *rígidos* (panel b) a diferentes resolución. Las barras de error representan el error estándar.

4.7(f). La DF que obtuvimos para tales imágenes (símbolos rellenos en la Figura 4.7(b)) también es insensible a la monodispersidad o a la falta de ésta en los cepillos, pues el valor de  $\alpha$  es aproximadamente el valor promedio de la DF de los cepillos normales y cancerosos *suaves* bajo condiciones de buen solvente. Por último, encontramos que en condiciones de mal solvente, la DF de los cepillos cancerosos *rígidos*, es mayor que la de sus contrapartes normales (símbolos huecos en la Figura (4.7(b))).

Los resultados de la DF de las imágenes a diferentes resoluciones, muestran que existe una correlación entre el error estándar del cálculo de  $\alpha$  y la calidad de la imagen. Encontramos que el error se minimiza conforme la calidad de la imagen aumenta. Esto ocurre porque las imágenes con mayor calidad muestran una mayor densidad de puntos en el rango donde el comportamiento de la función  $A(Q)$  (ecuación 4.3) es lineal ( $A(Q) \sim Q^b$  en escala log - log).

#### 4.5. Lagunaridad $\Lambda$

En esta sección mostramos la metodología utilizada para el cálculo de la lagunaridad y los resultados obtenidos de las imágenes topográficas de los cepillos cancerosos y sanos generadas en la sección anterior. Además de calcular la DF con base a este parámetro.

Utilizando el software ImageJ [138], calculamos la lagunaridad de las imágenes con el plugin llamado FracLac [139]. Para el cálculo de  $\Lambda$ , el programa utiliza el algoritmo llamado Differential Box Counting (DBC) [140]. Este algoritmo consiste en lo siguiente:

a) Colocamos una caja deslizante (GB, por sus siglas en inglés) de tamaño  $\varepsilon$  en una de las esquinas de alguna sección de la imagen de tamaño  $W \times W$ , donde  $\varepsilon < W$ .

b) En la GB de tamaño  $\varepsilon \times \varepsilon$ , generamos una columna de cubos de tamaño  $\varepsilon \times \varepsilon \times \varepsilon$  con

el fin de cubrir el valor máximo del píxel (el cual en este caso representa la altura), donde los píxeles dentro de la GB con el valor mínimo y máximo están dentro de los cubos  $u$  y  $v$ , respectivamente, por lo que la altura relativa de la columna está dada por [141]

$$I(i, j, \varepsilon) = v - u + 1, \quad (4.6)$$

en donde  $i$  y  $j$  refieren al número de píxeles de la región  $W \times W$  tal que  $i \wedge j = 1, 2, \dots, W/\varepsilon$ .

c) Una vez que la GB recorre toda la sección  $W \times W$ , la función de densidad de la escala de grises de la imagen será

$$M(\varepsilon) = \sum_{i,j} I(i, j, \varepsilon). \quad (4.7)$$

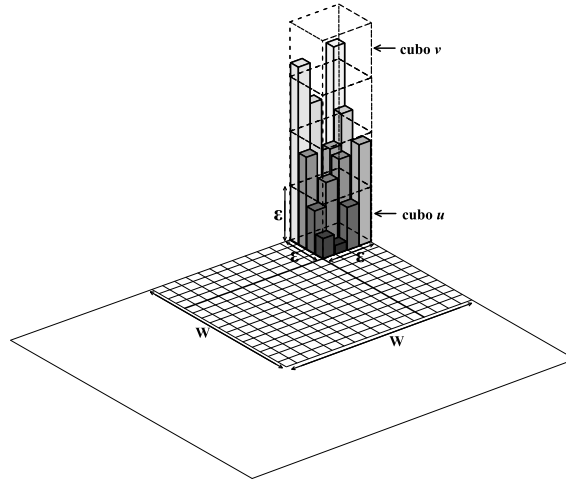
d) Por último, calculamos la lagunaridad  $\Lambda(\varepsilon)$  mediante la siguiente ecuación

$$\Lambda(\varepsilon) = \frac{\sum_M M^2 Q(M, \varepsilon)}{\left[ \sum_M M Q(M, \varepsilon) \right]^2}, \quad (4.8)$$

en donde  $Q(M, \varepsilon)$  es la distribución de probabilidad de la masa de grises,  $M$ , que se obtiene al dividir el número de GB  $n(M, \varepsilon)$  sobre el número total de cajas que contiene la imagen [142]. En la Figura 4.8 mostramos una ilustración que plantea la idea básica del algoritmo DCB.

En otras palabras, la lagunaridad  $\Lambda$  en función de  $\varepsilon$  se define como la desviación cuadrática media de las fluctuaciones de la distribución de probabilidad  $Q(M, \varepsilon)$ , dividida por su media cuadrada.

Para escalar el tamaño de las GBs  $\varepsilon \times \varepsilon$ , utilizamos una serie de potencias de base 2. Dado a que las resoluciones de las imágenes que generamos son de  $2^n \times 2^n$  píxeles, donde  $n = 7, 8, 9, 10$ , tenemos que el tamaño mínimo de la GB es de  $2^1 \times 2^1$  píxeles, mientras que el tamaño máximo será precisamente  $2^n \times 2^n$ . En la Figura 4.9 reportamos las curvas de la lagunaridad en función del tamaño de la GB ( $\Lambda(\varepsilon)$ ) en escala log - log, de las imágenes de los modelos de cepillos normales y cancerosos para las diferentes resoluciones que trabajamos. En este trabajo introducimos el cálculo de la lagunaridad como prueba de concepto, la cual puede ser implementada en imágenes experimentales generadas por la AFM, cómo podemos ver en la Figura 4.10. En esta última figura, mostramos las curvas



**Fig. 4.8:** Ilustración que representa la idea básica del algoritmo DBC. En este ejemplo tenemos una GB de  $4 \times 4$ , donde  $u = 1$  y  $v = 4$ , por lo tanto  $I = 4 - 1 + 1 = 4$ .

de lagunaridad de imágenes topográficas de células epiteliales cervicales humanas generadas por AFM, las cuales fueron extraídas de los trabajos de Dokukin *et al.* [9] y Guz *et al.* [10].

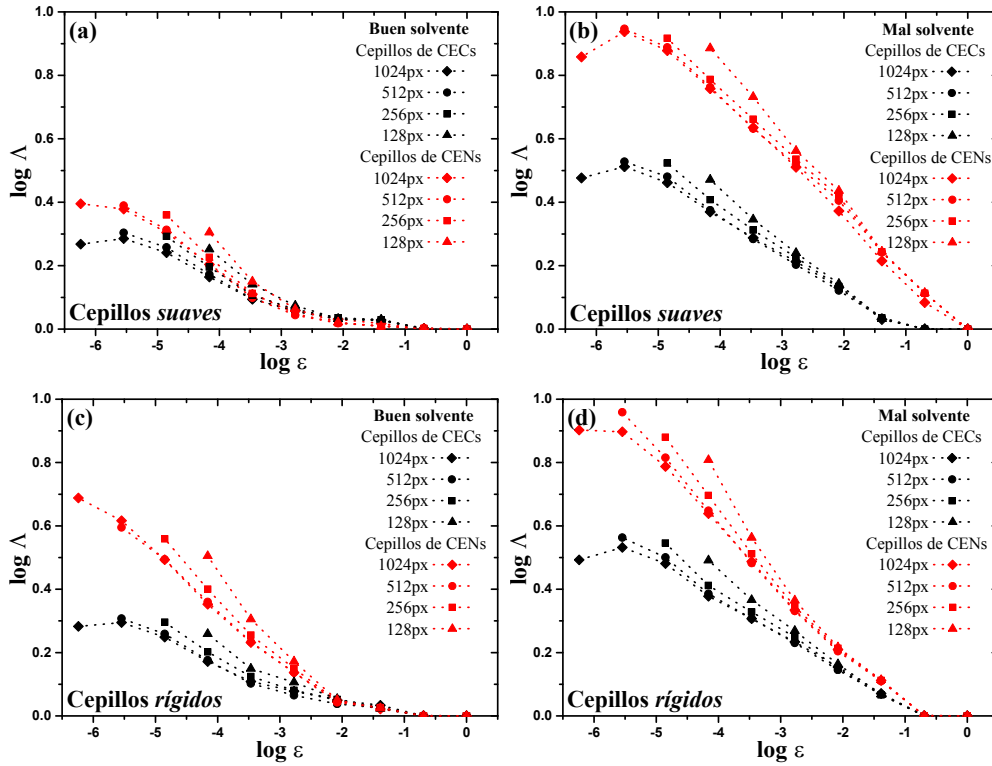
Los resultados de la Figura 4.9 muestran que existe una tendencia sobresaliente, la cual indica que en general, la lagunaridad de los cepillos normales (curvas rojas en la Figura 4.9) es mayor a la de los cepillos cancerosos (curvas negras en la Figura 4.9). Esta tendencia también la encontramos en las imágenes experimentales de CENs y CECs que analizamos (Figura 4.10). Por otra parte, encontramos que los cepillos inmersos en un buen solvente tienen una lagunaridad menor que su homólogos inmersos en un mal solvente, lo cual podemos ver al comparar las pendientes en las curvas de la Figura 4.9. Además, notamos que si conservamos la calidad del solvente la lagunaridad entre los cepillos *suaves* y *rígidos* tiene valores relativamente similares, en general. Estos resultados muestran que el incremento en la resolución de la imagen (al menos para las resoluciones trabajadas aquí) tiende a incrementar levemente el valor de la lagunaridad media de la imagen, calculada por la siguiente ecuación [139]

$$\langle \Lambda \rangle = \frac{\sum \Lambda(\varepsilon)}{G_N} \quad \forall \varepsilon \in G, \quad (4.9)$$

donde  $G$  es el conjunto del tamaño de cajas. En la Figura 4.11 reportamos la lagunaridad media que corresponden a las curvas de la Figura 4.9

Debido a que la lagunaridad es una medida de la falta de invariancia traslacional, los





**Fig. 4.9:** Lagunaridad en función del tamaño de GB  $\Lambda(\varepsilon)$  (en escala log - log) de las imágenes de los cepillos *suaves* ((a)-(b)) y *rígidos* ((c)-(d)) en los dos tipos de calidad de solvente, para las diferentes resoluciones elegidas. Las líneas punteadas son solo guías que unen los puntos.

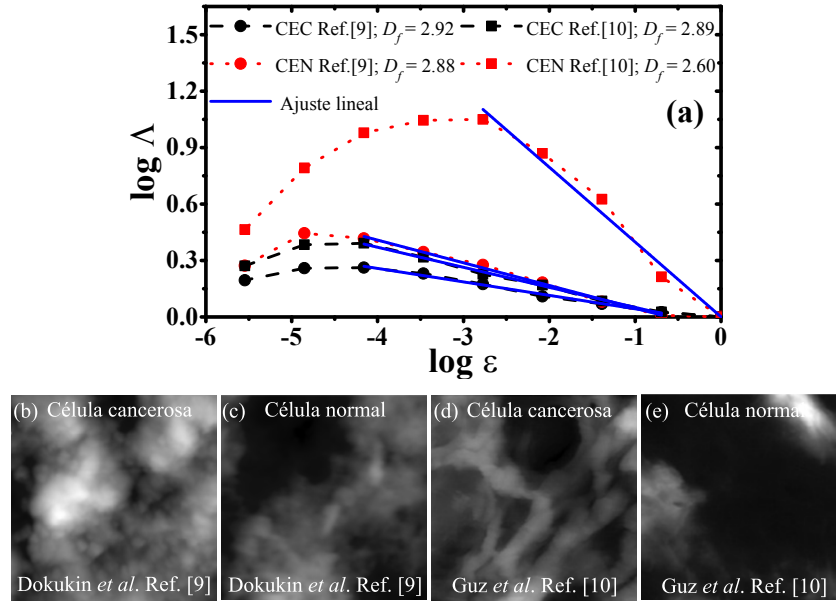
resultados demuestran que los cepillos normales en condiciones de mal solvente poseen más “huecos”, ergo, son menos invariantes a las traslaciones que sus contrapartes cancerosas. Esto es consecuencia de las diferentes densidades de injertos que cada tipo de cepillo tiene, lo cual puede ser consecuencia de los mecanismos que se le atribuye a la malignidad de la célula [143].

Haciendo uso de las pendientes  $m$  de las curvas  $\log \Lambda(\varepsilon)$  vs  $\log \varepsilon$  de la Figura 4.9, logramos encontrar la DF de las imágenes a través de la relación

$$m = D_f - D_e, \quad (4.10)$$

en donde,  $D_f$  es la DF, la cual mostramos en la Figura 4.12, y  $D_e$  es la dimensión euclidiana [144].

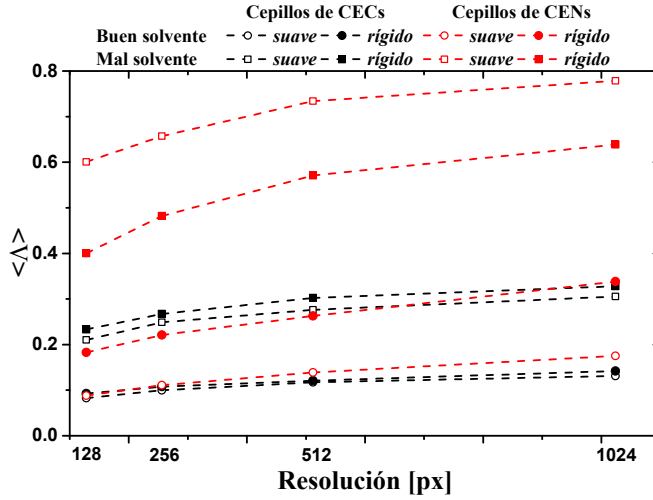
Aunque los valores de la DF de las imágenes obtenidos a través del análisis de Fou-



**Fig. 4.10:** Curvas de lagunaridad  $\Lambda$ , en función del tamaño de caja  $\varepsilon$ , en escala log-log (a) de imágenes experimentales de células epiteliales cervicales humanas (b)-(e) generadas por AFM. La resolución de las imágenes es de  $512 \times 512$  píxeles. Las líneas continuas representan el ajuste lineal de las curvas, cuya pendiente se relaciona con la DF de la imagen (ver leyenda del panel a). Las líneas discontinuas solo sirven como guías para unir los puntos. Las imágenes topográficas, (b)-(e), fueron extraídas de los trabajos de Dokukin *et al.* [9] y Guz *et al.* [10].

rier difieren con los obtenidos mediante las curvas de lagunaridad, encontramos que las tendencias son consistentes entre ambos análisis, y con la encontrada en las imágenes experimentales (Figura 4.10), donde los valores de la DF muestran diferencias de al menos 10 % entre CENs y CECs. En las imágenes de cepillos de modelos computacionales, encontramos que las células cancerosas exhiben una DF más alta que la de las imágenes de las células normales, y la condición de mal solvente reduce la fractalidad de dichos sistemas. También notamos que, en general, y al igual que con el análisis de Fourier, el error en el cálculo de la DF disminuye conforme aumentamos la calidad de la imagen, donde las imágenes con resolución más baja muestran errores entre 1 % y 0.135 %, mientras que las imágenes con más alta calidad muestran errores entre 0.241 % y 0.094 %.

El cálculo de la lagunaridad nos provee información adicional que complementa a la DF, debido a que nos ayuda a encontrar diferencias entre los diversos patrones que se pueden presentar en una imagen [145].



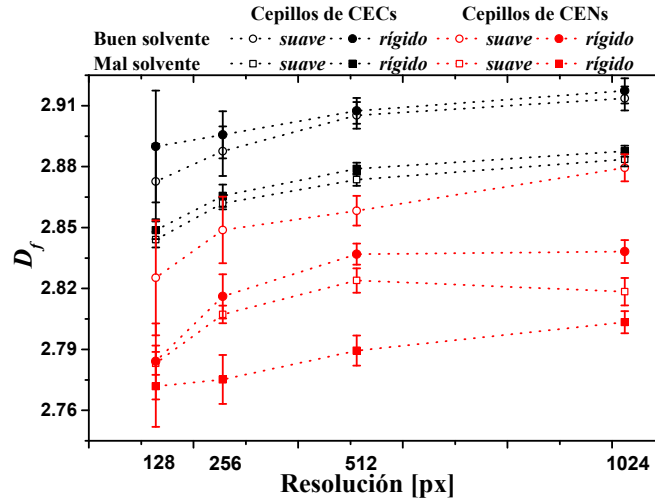
**Fig. 4.11:** Lagunaridad media de los cepillos a diferente resolución de imagen. Las líneas discontinuas solo son guías que unen los puntos.

## 4.6. Conclusiones

Encontramos que los cepillos dentro de un solvente de mala calidad, colapsan hacia la superficie celular o se adhieren a la superficie de la punta del AFM debido a que las interacciones solvente-cepillo son más intensas que en el caso de un buen solvente, lo cual podemos apreciar en la Figura 4.2 y 4.5. En un buen solvente las moléculas del cepillo se distribuyen sobre el espacio de una forma homogénea, que incluso sería difícil distinguir el cepillo canceroso del normal a simple vista (comparando la Figura 4.2(a) con 4.2(e) y 4.5(a) con 4.5(b)); incluso al analizar los grosores promedios de los cepillos en buen solvente en la Figura 4.1. Estos resultados sugieren que, si uno quisiera observar (a través de imágenes topográficas) diferencias morfológicas de las superficies entre estos dos tipos de células, resultaría complicado identificarlas a simple vista.

Los resultados de las simulaciones muestran que las tendencias encontradas para la DF a través del análisis de Fourier, son consistentes con aquellas reportadas [9, 44], donde la DF ( $\alpha$ ) de los cepillos cancerosos *suaves* resulta ser mayor que sus contrapartes normales. Las mismas tendencias fueron a través del estudio de la lagunaridad. Aunque los valores numéricamente son diferentes, encontramos que la DF ( $D_f$ ) de los cepillos cancerosos en general, es mayor a la de los cepillos normales.

Adicionalmente, encontramos que la lagunaridad del cepillo normal *suave* es mayor que la del cepillo canceroso *suave*, cuando están inmersos en un solvente de mala calidad (ver Figura 4.11), debido a que en sus respectivas imágenes topográficas (Figura 4.5(c) y



**Fig. 4.12:** Dimensión fractal de las imágenes de los cepillos para las diferentes resoluciones de imagen, calculada a través de la ecuación 4.10. Las barras de error representan el error estándar. Las líneas punteadas son solo guías que unen los puntos.

4.5(d)) uno puede ver que el cepillo normal tiene más huecos o que la imagen es menos homogénea. Mientras que la DF estima la complejidad del cepillo (entre más inhomogéneo, mayor la DF), la lagunaridad estima la falta de invariancia traslacional. El uso conjunto de estos dos parámetros, puede resultar en un diagnóstico más robusto basado en el análisis de imágenes. Por ejemplo, en imágenes tomadas de células fijas y liofilizadas [9], en donde el ambiente actúa como un mal solvente en los cepillos, la metodología mostrada en este trabajo puede ayudar a distinguir entre células normales y células cancerosas debido a que las diferencias en la DF que uno obtiene pueden ser mayor al 20 %, como se ha reportado en otros trabajos [9, 45]. Mientras que las diferencias en la lagunaridad pueden ser mayores, alrededor de un orden de magnitud (ver Figura 4.9).

Los resultados de este capítulo demuestran que este tipo de modelos de cepillos pueden ser trascendentales a la hora de modelar cepillos biológicos. Y que el uso de este tipo de modelos nos da una alternativa para poder estudiar las propiedades geométricas, como la fractalidad y la lagunaridad, que emergen de las imágenes con este tipo de estructuras superficiales. También, esperamos que nuestros resultados sean útiles no solo para este tipo de sistemas biofísicos, sino que puedan extenderse a aplicaciones de cepillos poliméricos, como en aquellos materiales sensibles a estímulos donde la calidad del solvente puede variar [146].

*V*

---

*Conclusiones y perspectivas*

En este trabajo realizamos una serie de simulaciones computacionales utilizando el método de grano grueso, llamado Dinámica de Partículas Disipativas, de sistemas con estructuras tipo cepillo, los cuales sirven como modelos de aquellos cepillos que se encuentran sobre la superficie de ciertas células epiteliales humanas. Los cepillos que diseñamos varían en la densidad de injertos de las cadenas y el grado de dispersión de longitudes de éstas, tal que tenemos sistemas de cepillos monodispersos y tridispersos, que usamos como modelos para representar cepillos de células sanas y cancerosas. Tales sistemas, fueron confinados por dos superficies en una de sus direcciones, tal que una de éstas tiene un cierto radio de curvatura, la cual nos sirve como modelo de la superficie de una punta de AFM. Por una parte nos enfocamos en medir las propiedades reológicas de estos cepillos, induciendo un movimiento oscilatorio sobre la superficie donde las cadenas de los cepillos fueron embebidos, variando la rigidez de las cadenas y la densidad de injertos en dichos cepillos. Por otro lado, hicimos un estudio sobre la fractalidad de las imágenes topográficas de estos cepillos, variando la calidad del solvente en el cual están inmersos y la resolución de las imágenes generadas.

Encontramos que la rigidez y la densidad de injertos de las cadenas de los cepillos juegan un papel muy importante en el cálculo de la viscosidad, pues los resultados demuestran que la viscosidad de los cepillos más rígidos es menor a la de los cepillos suaves, cuando la densidad de injertos de ambos es alta; por otro lado, al disminuir la densidad de injertos de los cepillos normales, encontramos una tendencia opuesta. Encontramos que la perturbación oscilatoria externa impacta directamente en el cálculo de esta propiedad (así como en las demás reportadas), pues la viscosidad de los cepillos suaves decrece linealmente conforme la amplitud del movimiento oscilatorio aumenta. El hecho que la frecuencia de éste no impacte claramente en la viscosidad, se debe a que los cepillos no tienen el tiempo de relajación suficiente para responder a la inversión de la dirección del flujo generado.

Algo sin duda digno de remarcar, es que las tendencias encontradas para la dimensión fractal de las imágenes de los cepillos, a través del análisis de Fourier y del cálculo de la lagunaridad, son congruentes con las que se han reportado en la literatura. Nuestros resultados muestran que la dimensión fractal de las imágenes de cepillos cancerosos, generalmente, es mayor a la de los cepillos normales. Lo cual puede ser consecuencia de los mecanismos que generan la malignidad en las células, pues como se ha demostrado, las diferencias morfológicas entre células sanas y cancerosas repercuten en estas propiedades geométricas y también en propiedades biomecánicas.

Estos resultados nos motivan a seguir con la incursión en la caracterización de superficies celulares, específicamente en proponer modelos de cepillos y membranas, pues existen reportes que demuestran cómo la respuesta mecánica de los cepillos puede medirse de forma independiente a la membrana celular.

## V. Conclusiones y perspectivas

---

Una de las expectativas que surgen a raíz de esta tesis, es que estas metodologías sean implementadas en trabajos experimentales donde uno pueda medir la viscosidad por ejemplo, de células individuales, tanto sanas como cancerosas. Además, esperamos que estos resultados puedan proporcionar más argumentos a favor del uso del análisis fractal en imágenes topográficas de células sanas y cancerosas como una herramienta que ayude al diagnóstico y/o rastreo de esta enfermedad, ya que los métodos actuales de diagnóstico todavía dependen de la inspección visual y experiencia del médico. Adicionalmente, la generación de modelos computacionales aún más robustos que puedan representar de manera más concreta las superficies celulares y considerar, de ser posible, los componentes químicos que forman parte de las superficies celulares, tanto la composición de los cepillos y membranas, como el ambiente en el que se encuentran.

Finalmente, una de las perspectivas es modificar la geometría de la punta, ya sea reduciendo el radio de curvatura de ésta o proponer un modelo de geometría piramidal por ejemplo, para comparar los perfiles de tales propiedades con los obtenidos en este trabajo; además, se podría proponer modelos de cepillos con cadenas libres, i.e., que los extremos no estén sujetos a la superficie, si no que se muevan libremente sobre ella, considerando que no estén bajo flujo para correlacionar de alguna manera la motilidad de los cepillos con la respuesta mecánica de éstos al estar en contacto con la punta del AFM. Otra de las perspectivas es que los modelos numéricos y las metodologías propuestas en esta tesis puedan ser usados en estudios de cepillos poliméricos bajo flujos oscilatorios, pues es sabido que existen muchos fenómenos naturales y algunos procesos industriales donde los cepillos son influenciados por flujos altamente no estacionarios.

# *Apéndice A*

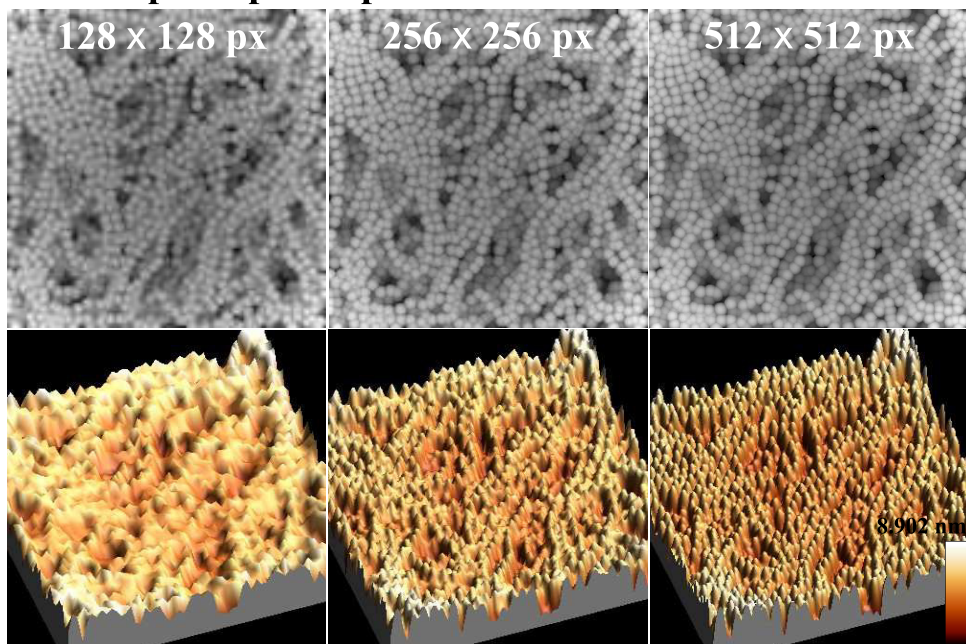
---

## *Imágenes topográficas*

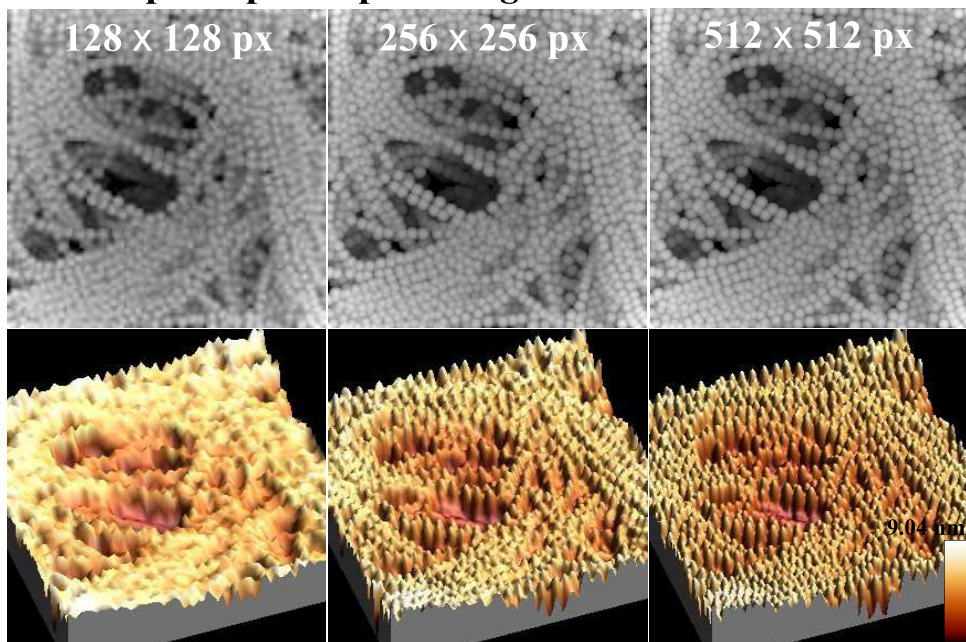
En este apéndice, agregamos en la Figura A.1, las imágenes topográficas de los cepillos con resoluciones de  $128 \times 128$ ,  $256 \times 256$  y  $512 \times 512$ , las cuales no mostramos en el texto principal por cuestión de espacio y visualización. Además, agregamos las proyecciones 3-Dimensionales de las topografías.



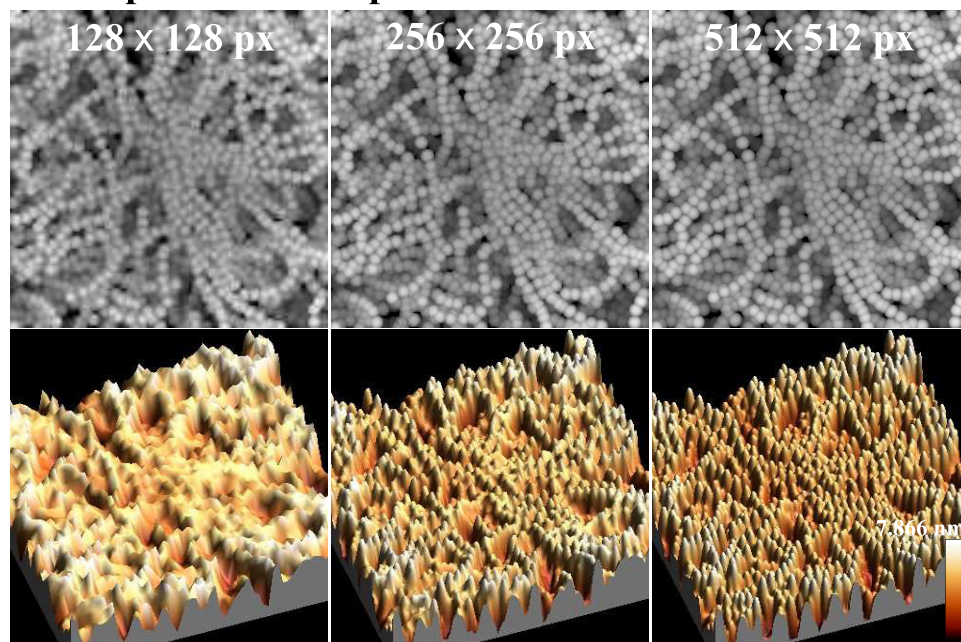
**Cepillos polidispersos *suaves* en buen solvente**



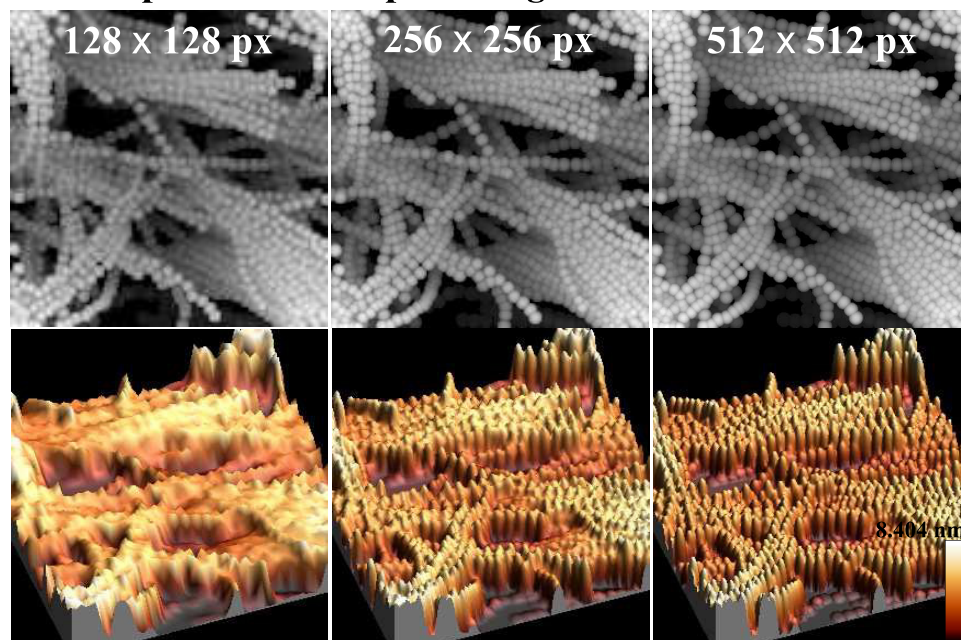
**Cepillos polidispersos *rígidos* en buen solvente**



**Cepillos monodispersos *suaves* en buen solvente**

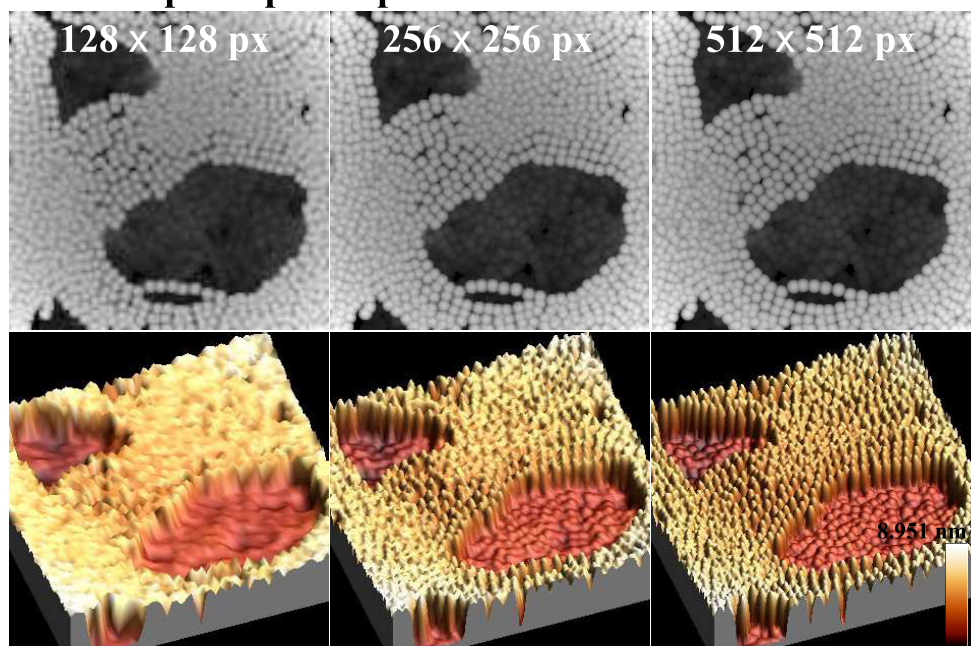


**Cepillos monodispersos *rígidos* en buen solvente**

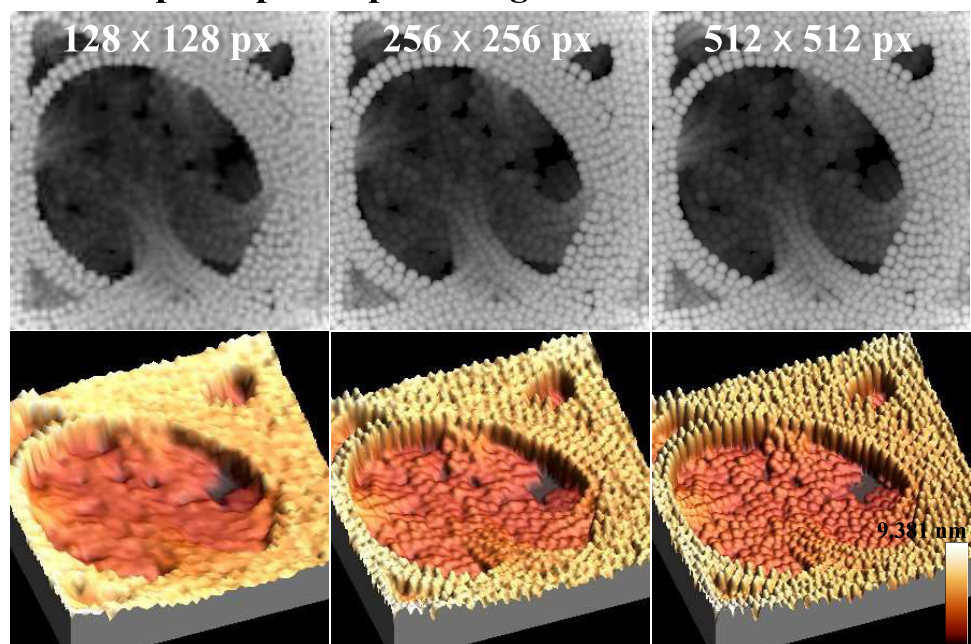




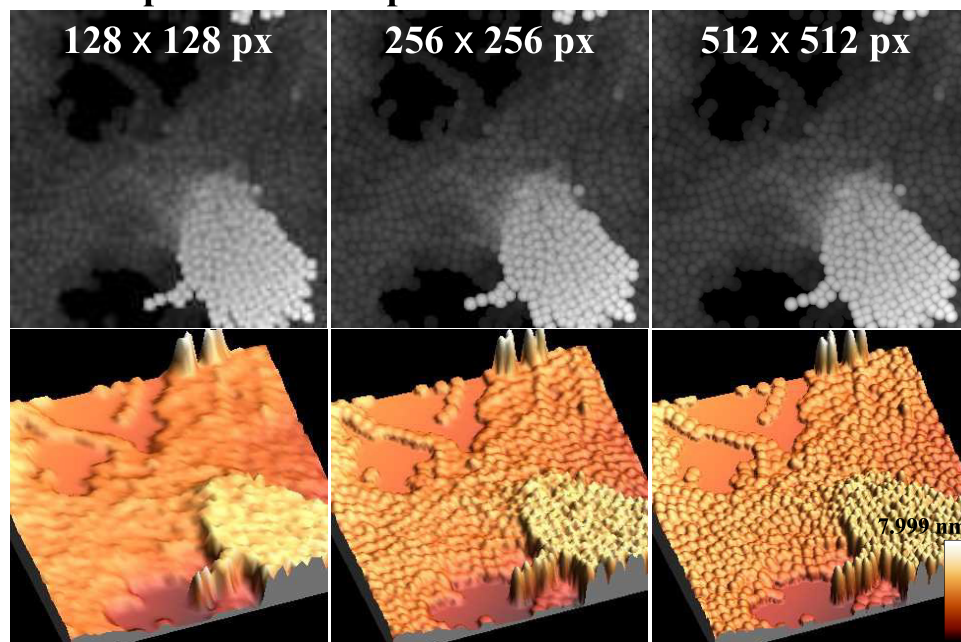
**Cepillos polidispersos *suaves* en mal solvente**



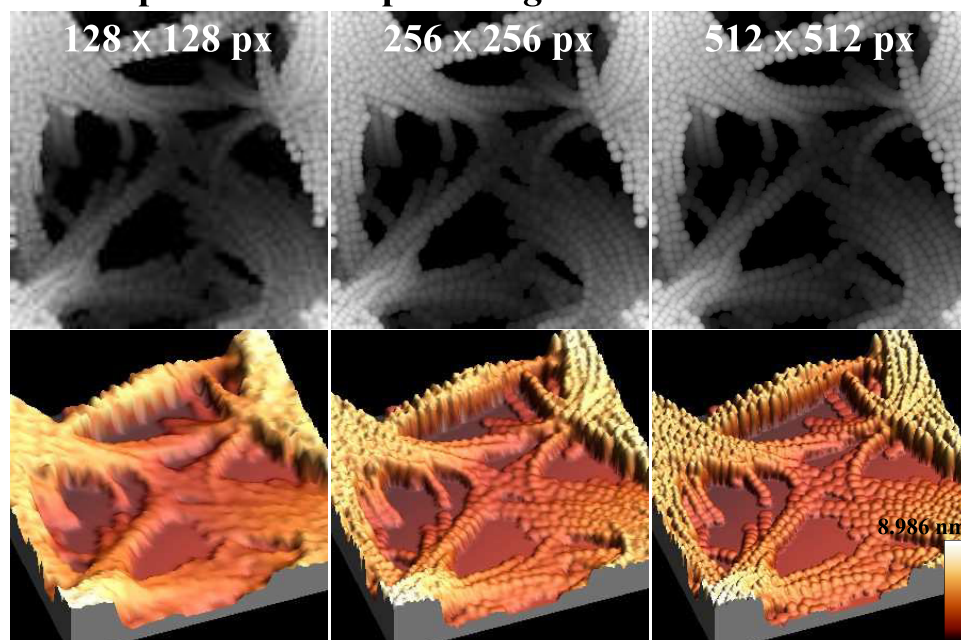
**Cepillos polidispersos *rígidos* en mal solvente**



**Cepillos monodispersos *suaves* en mal solvente**



**Cepillos monodispersos *rígidos* en mal solvente**



**Fig. A.1:** Imágenes topográficas de los cepillos a 3 diferentes resoluciones (128×128, 256×256 y 512×512 píxeles).

## Apéndice A

---

Las imágenes en escala de grises son los mapas de intensidades de las matrices de alturas generadas para cada sistema con la resolución mostrada en la imagen. La imagen en tonos de sepia que se muestra debajo de cada imagen en escala de grises, es su proyección tri-dimensional, la cual fue obtenida con el software WSxM 5.0 Develop 9.0 [147]. La escala que aparece en la imagen inferior derecha de cada set de 6 imágenes representa la altura de las imágenes de dicho set, donde el color blanco representa la altura mayor.

## *Apéndice B*

---

### *Publicaciones y Presentaciones*

### **PUBLICACIONES**

#### **Artículos**

##### *-Publicados*

J. D. Hernández Velázquez, S. Mejía-Rosales, A. Gama Goicochea, *Colloid. Surface. B*, **2018**, 170, 572-577.

“Fractal Properties of Biophysical Models of Pericellular Brushes Can Be Used to Differentiate Between Cancerous and Normal Cervical Epithelial Cells”

J. D. Hernández Velázquez, S. Mejía-Rosales, A. Gama Goicochea, *Polymer*, **2017**, 44-56.

“Nanorheology of Poly - and Monodispersed Polymer Brushes under Oscillatory Flow as Models of Epithelial Cancerous and Healthy Cell Brushes”

J. D. Hernández Velázquez, J. Barroso-Flores, A. Gama Goicochea, *J. Phys. Chem. A*, **2016**, 120, 9244-9248.

“Ab Initio Modeling of Friction Reducing Agents Shows Quantum Mechanical Interactions Can Have Macroscopic Manifestation”

A. Gama Goicochea, M. A. Balderas Altamirano, J. D. Hernández Velázquez, E. Pérez, *Comput. Phys. Commun.*, **2015**, 188, 76-81.

“The Role of the Dissipative and Random Forces in the Calculation of the Pressure of Simple Fluids with Dissipative Particle Dynamics”

#### **Capítulos**

J. D. Hernández Velázquez, S. Mejía-Rosales, A. Gama Goicochea, en: *High Performance Computer Applications*; I. Gitler, J. Klapp (Eds), *Comm. Com. Inf. S.*, **2016**, 595, 432-446.

“Rheological Properties of Brushes on Cancerous Epithelial Cells Under the Influence of an External Oscillatory Force”

## **PRESENTACIONES**

### **Posters**

J. D. Hernández Velázquez, S. Mejía-Rosales, A. Gama Goicochea, 7mo. Foro de Divulgación Científica y Tecnológica, **2017**, Nuevo León, México.

“Dimensión Fractal de Cepillos Poliméricos como Modelos de Cepillos Biológicos”

J. D. Hernández Velázquez, S. Mejía-Rosales, A. Gama Goicochea, XXV IMRC, **2016**, Nuevo León, México.

“Rheological Properties of Epithelial Cells Brushes Interacting with an AFM Tip Using DPD Simulations”

J. D. Hernández Velázquez, S. Mejía-Rosales, A. Gama Goicochea, 6to. Foro de Divulgación Científica y Tecnológica, **2016**, Nuevo León, México.

“Rheological Properties of Brushes on Cancerous Epithelial Cells under the Influence of an External Oscillatory Force”

A. Gama Goicochea, M. A. Balderas Altamirano, J. D. Hernández Velázquez, E. Pérez, 5to. Foro de Divulgación Científica y Tecnológica, **2015**, Nuevo León, México.

“Rol de las Fuerzas Disipativa y Aleatoria en el Cálculo de la Presión de Fluidos Simples con DPD”

### **Charlas**

J. D. Hernández Velázquez, 7mo. Foro de Divulgación Científica y Tecnológica, **2017**, Nuevo León, México.

“Nanoreología de Cepillos Poliméricos Poli- y Monodispersos bajo Flujo Oscilatorio como Modelo de Cepillos de Células Epiteliales Cancerosas y Sanas”

J. D. Hernández Velázquez, Taller de Simulación Computacional 2015, **2015**, Sonora, México.

“Rol de las Fuerzas Disipativa y Aleatoria en la Presión de Fluidos Simples con DPD”



---

## *Referencias*

- [1] H Babahosseini, B Carmichael, JS Strobl, SN Mahmoodi, and M Agah. Sub-cellular force microscopy in single normal and cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 463(4):587–592, 2015.
- [2] A Gama Goicochea, MA Balderas Altamirano, JD Hernández, and E Pérez. The role of the dissipative and random forces in the calculation of the pressure of simple fluids with dissipative particle dynamics. *Computer Physics Communications*, 188:76–81, 2015.
- [3] Félix Rico, Pere Roca-Cusachs, Núria Gavara, Ramon Farré, Mar Rotger, and Daniel Navajas. Probing mechanical properties of living cells by atomic force microscopy with blunted pyramidal cantilever tips. *Physical Review E*, 72(2):021914, 2005.
- [4] S Iyer, RM Gaikwad, V Subba-Rao, CD Woodworth, and Igor Sokolov. Atomic force microscopy detects differences in the surface brush of normal and cancerous cells. *Nature nanotechnology*, 4(6):389–393, 2009.
- [5] Hossein Eslami and Florian Müller-Plathe. Viscosity of nanoconfined polyamide-6, 6 oligomers: atomistic reverse nonequilibrium molecular dynamics simulation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(1):387–395, 2009.
- [6] Motoyasu Kobayashi and Atsushi Takahara. Tribological properties of hydrophilic polymer brushes under wet conditions. *The Chemical Record*, 10(4):208–216, 2010.
- [7] Marina G Saphiannikova, Victor A Pryamitsyn, and Tatiana M Birshtein. Self-consistent brownian dynamics simulation of polymer brushes under shear. *Macromolecules*, 33(7):2740–2747, 2000.

## Referencias

---

- [8] Patrick S Doyle, Eric SG Shaqfeh, and Alice P Gast. Rheology of "wet"polymer brushes via brownian dynamics simulation: Steady vs oscillatory shear. *Physical review letters*, 78(6):1182, 1997.
- [9] ME Dokukin, NV Guz, RM Gaikwad, CD Woodworth, and I Sokolov. Cell surface as a fractal: normal and cancerous cervical cells demonstrate different fractal behavior of surface adhesion maps at the nanoscale. *Physical review letters*, 107(2):028101, 2011.
- [10] Nataliia V Guz, Maxim E Dokukin, Craig D Woodworth, Andrew Cardin, and Igor Sokolov. Towards early detection of cervical cancer: Fractal dimension of afm images of human cervical epithelial cells at different stages of progression to cancer. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11(7):1667–1675, 2015.
- [11] Robert A Weinberg. The nature of cancer. In *The Biology of Cancer*, chapter 2. Garland science, 2013.
- [12] John Mendelsohn, Peter M Howley, Mark A Israel, Joe Gray, and Craig B Thompson. *The Molecular Basis of Cancer*. Elsevier Inc., 2008.
- [13] R Damadian. Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science (New York, NY)*, 171(3976):1151–1153, 1971.
- [14] Lindsey A Torre, Freddie Bray, Rebecca L Siegel, Jacques Ferlay, Joannie Lortet-Tieulent, and Ahmedin Jemal. Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, 65(2):87–108, 2015.
- [15] Peter Friedl and Katarina Wolf. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, 3(5):362–374, 2003.
- [16] Erik Sahai. Mechanisms of cancer cell invasion. *Current opinion in genetics & development*, 15(1):87–96, 2005.
- [17] Weigang Wang, Sumanta Goswami, Erik Sahai, Jeffrey B Wyckoff, Jeffrey E Segall, and John S Condeelis. Tumor cells caught in the act of invading: their strategy for enhanced cell motility. *Trends in cell biology*, 15(3):138–145, 2005.
- [18] Hideki Yamaguchi, Jeffrey Wyckoff, and John Condeelis. Cell migration in tumors. *Current opinion in cell biology*, 17(5):559–564, 2005.
- [19] Christine L Chaffer and Robert A Weinberg. A perspective on cancer cell metastasis. *Science*, 331(6024):1559–1564, 2011.

- [20] Igor Sokolov. Atomic force microscopy in cancer cell research. *Cancer Nanotechnology*, 1:1–17, 2007.
- [21] Sarah E Cross, Yu-Sheng Jin, Julianne Tondre, Roger Wong, JianYu Rao, and James K Gimzewski. Afm-based analysis of human metastatic cancer cells. *Nanotechnology*, 19(38):384003, 2008.
- [22] Lyndon Bastatas, Dalia Martinez-Marin, James Matthews, Jood Hashem, Yong J Lee, Souad Sennoune, Stephanie Filleur, Raul Martinez-Zaguilan, and Soyeun Park. Afm nano-mechanics and calcium dynamics of prostate cancer cells with distinct metastatic potential. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(7):1111–1120, 2012.
- [23] Yara Abidine, Valérie M Laurent, Richard Michel, Alain Duperray, and Claude Verdier. Local mechanical properties of bladder cancer cells measured by afm as a signature of metastatic potential. *EPJPlus*, 130:202, 2015.
- [24] Małgorzata Lekka. Discrimination between normal and cancerous cells using afm. *Bionanoscience*, 6(1):65–80, 2016.
- [25] Sarah E Cross, Yu-Sheng Jin, Jianyu Rao, and James K Gimzewski. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients. *Nature nanotechnology*, 2(12):780–783, 2007.
- [26] QS Li, GYH Lee, CN Ong, and CT Lim. Afm indentation study of breast cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 374(4):609–613, 2008.
- [27] Małgorzata Lekka, Dorota Gil, Katarzyna Pogoda, Joanna Dulińska-Litewka, Robert Jach, Justyna Gostek, Olesya Klymenko, Szymon Prauzner-Bechcicki, Zbigniew Stachura, Joanna Wiltowska-Zuber, et al. Cancer cell detection in tissue sections using afm. *Archives of biochemistry and biophysics*, 518(2):151–156, 2012.
- [28] Elena N Pugacheva, Sandra A Jablonski, Tiffiney R Hartman, Elizabeth P Henske, and Erica A Golemis. Hef1-dependent aurora a activation induces disassembly of the primary cilium. *Cell*, 129(7):1351–1363, 2007.
- [29] Miriam Cohen, Eugenia Klein, Benjamin Geiger, and Lia Addadi. Organization and adhesive properties of the hyaluronan pericellular coat of chondrocytes and epithelial cells. *Biophysical journal*, 85(3):1996–2005, 2003.
- [30] Lindsay MH Jones, Michael J Gardner, Jonathon B Catterall, and Graham A Turner. Hyaluronic acid secreted by mesothelial cells: a natural barrier to ovarian cancer cell adhesion. *Clinical & experimental metastasis*, 13(5):373–380, 1995.

## Referencias

---

- [31] William G Stetler-Stevenson, Sadie Aznavoorian, and Lance A Liotta. Tumor cell interactions with the extracellular matrix during invasion and metastasis. *Annual review of cell biology*, 9(1):541–573, 1993.
- [32] Ella Zimmerman, Benjamin Geiger, and Lia Addadi. Initial stages of cell-matrix adhesion can be mediated and modulated by cell-surface hyaluronan. *Biophysical journal*, 82(4):1848–1857, 2002.
- [33] M Abercrombie and EJ Ambrose. The surface properties of cancer cells: a review. *Cancer Research*, 22(5 Part 1):525–548, 1962.
- [34] Igor Sokolov, Swaminathan Iyer, Venkatesh Subba-Rao, Ravi M Gaikwad, and Craig D Woodworth. Detection of surface brush on biological cells in vitro with atomic force microscopy. *Applied Physics Letters*, 91(2):023902, 2007.
- [35] Thomas Lecuit and Pierre-Francois Lenne. Cell surface mechanics and the control of cell shape, tissue patterns and morphogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(8):633–644, 2007.
- [36] Biran Wang, Pascal Lançon, Céline Bienvenu, Pierre Vierling, Christophe Di Giorgio, and Georges Bossis. A general approach for the microrheology of cancer cells by atomic force microscopy. *Micron*, 44:287–297, 2013.
- [37] Jan Rother, Helen Nöding, Ingo Mey, and Andreas Janshoff. Atomic force microscopy-based microrheology reveals significant differences in the viscoelastic response between malign and benign cell lines. *Open biology*, 4(5):140046, 2014.
- [38] R Sedivy. Chaodynamic loss of complexity and self-similarity in cancer. *Medical hypotheses*, 52(4):271–274, 1999.
- [39] James W Baish and Rakesh K Jain. Fractals and cancer. *Cancer research*, 60(14):3683–3688, 2000.
- [40] Abdelrahim Nasser Esgiar, Raouf NG Naguib, Bayan S Sharif, Mark K Bennett, and Alan Murray. Fractal analysis in the detection of colonic cancer images. *IEEE transactions on information technology in biomedicine*, 6(1):54–58, 2002.
- [41] Rangaraj M Rangayyan and Thanh M Nguyen. Fractal analysis of contours of breast masses in mammograms. *Journal of Digital Imaging*, 20(3):223–237, 2007.
- [42] Mauro Tambasco and Anthony M Magliocco. Relationship between tumor grade and computed architectural complexity in breast cancer specimens. *Human pathology*, 39(5):740–746, 2008.

- [43] C Timbo, LAR da Rosa, M Goncalves, and SB Duarte. Computational cancer cells identification by fractal dimension analysis. *Computer Physics Communications*, 180(6):850–853, 2009.
- [44] ME Dokukin, NV Guz, CD Woodworth, and I Sokolov. Emergence of fractal geometry on the surface of human cervical epithelial cells during progression towards cancer. *New journal of physics*, 17(3):033019, 2015.
- [45] Wolfgang Bauer and Charles D Mackenzie. Cancer detection on a cell-by-cell basis using a fractal dimension analysis. *Acta Physica Hungarica A) Heavy Ion Physics*, 14(1):43–51, 2001.
- [46] Benoit B Mandelbrot and Roberto Pignoni. *The fractal geometry of nature*, volume 1. WH Freeman and Company, 1983.
- [47] CM Wijmans and B Smit. Simulating tethered polymer layers in shear flow with the dissipative particle dynamics technique. *Macromolecules*, 35(18):7138–7148, 2002.
- [48] Jianhua Huang, Yongmei Wang, and Mohamed Laradji. Flow control by smart nanofluidic channels: a dissipative particle dynamics simulation. *Macromolecules*, 39(16):5546–5554, 2006.
- [49] C Pastorino, T Kreer, M Müller, and K Binder. Comparison of dissipative particle dynamics and langevin thermostats for out-of-equilibrium simulations of polymeric systems. *Physical Review E*, 76(2):026706, 2007.
- [50] Armando Gama Goicochea and Francisco Alarcón. Solvation force induced by short range, exact dissipative particle dynamics effective surfaces on a simple fluid and on polymer brushes. *The Journal of chemical physics*, 134(1):014703, 2011.
- [51] Florent Goujon, Aziz Ghoufi, Patrice Malfreyt, and Dominic J Tildesley. Frictional forces in polyelectrolyte brushes: effects of sliding velocity, solvent quality and salt. *Soft Matter*, 8(17):4635–4644, 2012.
- [52] A Gama Goicochea, E Mayoral, J Klapp, and C Pastorino. Nanotribology of biopolymer brushes in aqueous solution using dissipative particle dynamics simulations: an application to peg covered liposomes in a theta solvent. *Soft Matter*, 10(1):166–174, 2014.
- [53] A Gama Goicochea and SJ Alas Guardado. Computer simulations of the mechanical response of brushes on the surface of cancerous epithelial cells. *Scientific reports*, 5, 2015.

## Referencias

---

- [54] Mingge Deng, Xuejin Li, Haojun Liang, Bruce Caswell, and George Em Karniadakis. Simulation and modelling of slip flow over surfaces grafted with polymer brushes and glycocalyx fibres. *Journal of fluid mechanics*, 711:192–211, 2012.
- [55] JD Hernández Velázquez, S Mejía-Rosales, and Armando Gama Goicochea. Rheological properties of brushes on cancerous epithelial cells under the influence of an external oscillatory force. In *International Conference on Supercomputing*, pages 432–446. Springer, 2015.
- [56] PJ Hoogerbrugge and JMVA Koelman. Simulating microscopic hydrodynamic phenomena with dissipative particle dynamics. *EPL (Europhysics Letters)*, 19(3):155, 1992.
- [57] JMVA Koelman and PJ Hoogerbrugge. Dynamic simulations of hard-sphere suspensions under steady shear. *EPL (Europhysics Letters)*, 21(3):363, 1993.
- [58] Pep Espanol and Patrick Warren. Statistical mechanics of dissipative particle dynamics. *EPL (Europhysics Letters)*, 30(4):191, 1995.
- [59] Robert D Groot and KL Rabone. Mesoscopic simulation of cell membrane damage, morphology change and rupture by nonionic surfactants. *Biophysical journal*, 81(2):725–736, 2001.
- [60] Paul J Flory. Thermodynamics of high polymer solutions. *The Journal of chemical physics*, 10(1):51–61, 1942.
- [61] Maurice L Huggins. Solutions of long chain compounds. *The Journal of chemical physics*, 9(5):440–440, 1941.
- [62] Robert D Groot and Patrick B Warren. Dissipative particle dynamics: Bridging the gap between atomistic and mesoscopic simulation. *The Journal of chemical physics*, 107(11):4423–4435, 1997.
- [63] Ilpo Vattulainen, Mikko Karttunen, Gerhard Besold, and James M Polson. Integration schemes for dissipative particle dynamics simulations: From softly interacting systems towards hybrid models. *The Journal of chemical physics*, 116(10):3967–3979, 2002.
- [64] Bruce M Forrest and Ulrich W Suter. Accelerated equilibration of polymer melts by time-coarse-graining. *The Journal of chemical physics*, 102(18):7256–7266, 1995.
- [65] Crispin W Gardiner. Handbook of stochastic methods for physics, chemistry and the natural sciences, vol. 13 of. *Springer series in synergetics*, 1985.

- [66] John D Weeks, David Chandler, and Hans C Andersen. Role of repulsive forces in determining the equilibrium structure of simple liquids. *The Journal of chemical physics*, 54(12):5237–5247, 1971.
- [67] Mike P Allen and Dominic J Tildesley. *Computer simulation of liquids*. Oxford university press, 1989.
- [68] E Mayoral and A Gama Goicochea. Modeling the temperature dependent interfacial tension between organic solvents and water using dissipative particle dynamics. *The Journal of chemical physics*, 138(9):094703, 2013.
- [69] Marieke Kranenburg et al. *Phase transitions of lipid bilayers*. PhD thesis, Universiteit van Amsterdam, 2004.
- [70] A Gama Goicochea. Adsorption and disjoining pressure isotherms of confined polymers using dissipative particle dynamics. *Langmuir*, 23(23):11656–11663, 2007.
- [71] Anshu B Mathur, Amy M Collinsworth, William M Reichert, William E Kraus, and George A Truskey. Endothelial, cardiac muscle and skeletal muscle exhibit different viscous and elastic properties as determined by atomic force microscopy. *Journal of biomechanics*, 34(12):1545–1553, 2001.
- [72] Antonio Boccaccio, Luciano Lamberti, Massimiliano Papi, Marco De Spirito, and Carmine Pappalettere. Effect of afm probe geometry on visco-hyperelastic characterization of soft materials. *Nanotechnology*, 26(32):325701, 2015.
- [73] Ketzasmin A Terrón-Mejía, Roberto López-Rendón, and Armando Gama Goicochea. Mesoscopic modeling of structural and thermodynamic properties of fluids confined by rough surfaces. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(39):26403–26416, 2015.
- [74] Bastian R Brückner and Andreas Janshoff. Elastic properties of epithelial cells probed by atomic force microscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1853(11):3075–3082, 2015.
- [75] Igor Sokolov, Maxim E Dokukin, and Nataliia V Guz. Method for quantitative measurements of the elastic modulus of biological cells in afm indentation experiments. *Methods*, 60(2):202–213, 2013.
- [76] LM Rebelo, JS De Sousa, J Mendes Filho, and M Radmacher. Comparison of the viscoelastic properties of cells from different kidney cancer phenotypes measured with atomic force microscopy. *Nanotechnology*, 24(5):055102, 2013.

## Referencias

---

- [77] Yuhua Wang, Chaoxian Xu, Ningcheng Jiang, Liqin Zheng, Jinshu Zeng, Caimin Qiu, Hongqin Yang, and Shusen Xie. Quantitative analysis of the cell-surface roughness and viscoelasticity for breast cancer cells discrimination using atomic force microscopy. *Scanning*, 2016.
- [78] Jochen Guck, Stefan Schinkinger, Bryan Lincoln, Falk Wottawah, Susanne Ebert, Maren Romeyke, Dominik Lenz, Harold M Erickson, Revathi Ananthakrishnan, Daniel Mitchell, et al. Optical deformability as an inherent cell marker for testing malignant transformation and metastatic competence. *Biophysical journal*, 88(5):3689–3698, 2005.
- [79] Nadja Nijenhuis, Daisuke Mizuno, Jos AE Spaan, and Christoph F Schmidt. High-resolution microrheology in the pericellular matrix of prostate cancer cells. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(73):1733–1744, 2012.
- [80] T Paust, S Paschke, M Beil, and O Marti. Microrheology of keratin networks in cancer cells. *Physical biology*, 10(6):065008, 2013.
- [81] Elena Lyapunova, Alexander Nikituk, Yuriy Bayandin, Oleg Naimark, Carmela Rianna, Manfred Radmacher, Elazar Y Gutmanas, Oleg B Naimark, and Yurii P Sharkeev. Passive microrheology of normal and cancer cells after m17 treatment by atomic force microscopy. In *AIP Conference Proceedings*, volume 1760, page 020046. AIP Publishing, 2016.
- [82] Changling Wang, Yuxiang Zhang, Mingdian Xia, Xingxi Zhu, Shitao Qi, Huaqiang Shen, Tiebing Liu, and Liming Tang. The role of nanotechnology in single-cell detection: a review. *Journal of biomedical nanotechnology*, 10(10):2598–2619, 2014.
- [83] Emad Moeendarbary and Andrew R Harris. Cell mechanics: principles, practices, and prospects. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 6(5):371–388, 2014.
- [84] Marija Plodinec, Marko Loparic, Christophe A Monnier, Ellen C Obermann, Rossanna Zanetti-Dallenbach, Philipp Oertle, Janne T Hyotyla, Ueli Aebi, Mohamed Bentires-Alj, Roderick YH Lim, et al. The nanomechanical signature of breast cancer. *Nature nanotechnology*, 7(11):757–765, 2012.
- [85] Małgorzata Lekka. Atomic force microscopy: a tip for diagnosing cancer. *Nature nanotechnology*, 7(11):691–692, 2012.
- [86] Rajarshi Roy and Jaydev P Desai. Determination of mechanical properties of spatially heterogeneous breast tissue specimens using contact mode atomic force microscopy (afm). *Annals of biomedical engineering*, 42(9):1806–1822, 2014.



- 
- [87] Erika Jonietz. Mechanics: The forces of cancer. *Nature*, 491(7425):S56–S57, 2012.
  - [88] Sofia Avnet and Margherita Cortini. Role of pericellular matrix in the regulation of cancer stemness. *Stem Cell Reviews and Reports*, 12(4):464–475, 2016.
  - [89] Jacob Klein. Shear of polymer brushes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 86:63–76, 1994.
  - [90] Rafael Tadmor, Joanna Janik, Jacob Klein, and Lewis J Fetters. Sliding friction with polymer brushes. *Physical review letters*, 91(11):115503, 2003.
  - [91] Christopher W Macosko and Ronald G Larson. *Rheology: principles, measurements, and applications*. Wiley-VCH, 1994.
  - [92] Julian C Shillcock and Reinhard Lipowsky. Equilibrium structure and lateral stress distribution of amphiphilic bilayers from dissipative particle dynamics simulations. *The Journal of chemical physics*, 117(10):5048–5061, 2002.
  - [93] G Illya, R Lipowsky, and JC Shillcock. Effect of chain length and asymmetry on material properties of bilayer membranes. *The Journal of chemical physics*, 122(24):244901, 2005.
  - [94] A Gama Goicochea, R López-Esparza, MA Balderas Altamirano, E Rivera-Paz, MA Waldo-Mendoza, and E Pérez. Friction coefficient and viscosity of polymer brushes with and without free polymers as slip agents. *Journal of Molecular Liquids*, 219:368–376, 2016.
  - [95] Armando Gama Goicochea. Scaling properties of soft matter in equilibrium and under stationary flow. In *Latin American High Performance Computing Conference*, pages 289–313. Springer, 2016.
  - [96] Jacob N Israelachvili. *Intermolecular and surface forces*. Academic press, 2011.
  - [97] Florent Goujon, Patrice Malfreyt, and Dominic J Tildesley. Mesoscopic simulation of entanglements using dissipative particle dynamics: Application to polymer brushes. *The Journal of chemical physics*, 129(3):034902, 2008.
  - [98] Frederick Gittes, Brian Mickey, Jilda Nettleton, and Jonathon Howard. Flexural rigidity of microtubules and actin filaments measured from thermal fluctuations in shape. *Journal of Cell biology*, 120:923–923, 1993.
  - [99] Marina G Saphiannikova, Victor A Pryamitsyn, and Terence Cosgrove. Self-consistent brownian dynamics simulation of polymer brushes under shear. *Macromolecules*, 31(19):6662–6668, 1998.

## Referencias

---

- [100] L Spirin, A Galuschko, and T Kreer. Response to shear inversion of polymer brushes with embedded colloids. *Macromolecules*, 44(23):9399–9410, 2011.
- [101] Rüdiger Goetz and Reinhard Lipowsky. Computer simulations of bilayer membranes: self-assembly and interfacial tension. *The Journal of chemical physics*, 108(17):7397–7409, 1998.
- [102] Costas Panayiotou. Interfacial tension and interfacial profiles of fluids and their mixtures. *Langmuir*, 18(23):8841–8853, 2002.
- [103] Danial Irfachsyad, Dominic Tildesley, and Patrice Malfreyt. Dissipative particle dynamics simulation of grafted polymer brushes under shear. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 4(13):3008–3015, 2002.
- [104] Jacob Klein, Eugenia Kumacheva, Diana Mahalu, Dvora Perahia, Lewis J Fetters, et al. Reduction of frictional forces between solid surfaces bearing polymer brushes. *Nature*, 370(6491):634–636, 1994.
- [105] A Korolkovas, C Rodriguez-Emmenegger, A de los Santos Pereira, A Chennévière, F Restagno, M Wolff, F A Adlmann, A J C Dennison, and P Gutfreund. Polymer brush collapse under shear flow. *Macromolecules*, 50, 2017.
- [106] Ramanan Krishnamoorti and Emmanuel P Giannelis. Strain hardening in model polymer brushes under shear. *Langmuir*, 17(5):1448–1452, 2001.
- [107] Amitabha Chakrabarti and Raul Toral. Density profile of terminally anchored polymer chains: a monte carlo study. *Macromolecules*, 23(7):2016–2021, 1990.
- [108] EB Zhulina, OV Borisov, and L Brombacher. Theory of a planar grafted chain layer immersed in a solution of mobile polymer. *Macromolecules*, 24(16):4679–4690, 1991.
- [109] Jaroslaw Klos and Tadeusz Pakula. Computer simulations of chains end-grafted onto a spherical surface. effect of matrix polymer. *Macromolecules*, 37(21):8145–8151, 2004.
- [110] Gerard Fleer, MA Cohen Stuart, JMHM Scheutjens, T Cosgrove, and B Vincent. *Polymers at interfaces*. Springer Science & Business Media, 1993.
- [111] Bruce J West and Ary L Goldberger. Physiology in fractal dimensions. *American Scientist*, 75(4):354–365, 1987.
- [112] Ary L Goldberger and Bruce J West. Fractals in physiology and medicine. *The Yale journal of biology and medicine*, 60(5):421, 1987.

- [113] Rosana Esteller, George Vachtsevanos, Javier Echauz, and Brian Litt. A comparison of waveform fractal dimension algorithms. *IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Fundamental Theory and Applications*, 48(2):177–183, 2001.
- [114] JZ Liu, Q Yang, B Yao, RW Brown, and GH Yue. Linear correlation between fractal dimension of eeg signal and handgrip force. *biological Cybernetics*, 93(2):131–140, 2005.
- [115] Rajendra Acharya, P Subbanna Bhat, N Kannathal, Ashok Rao, and Choo Min Lim. Analysis of cardiac health using fractal dimension and wavelet transformation. *ITBM-RBM*, 26(2):133–139, 2005.
- [116] Amit K Mishra and Shantanu Raghav. Local fractal dimension based ecg arrhythmia classification. *Biomedical Signal Processing and Control*, 5(2):114–123, 2010.
- [117] Simon S Cross, Roger D Start, Paul B Silcocks, Andrew D Bull, Dennis WK Cotton, and James CE Underwood. Quantitation of the renal arterial tree by fractal analysis. *The Journal of pathology*, 170(4):479–484, 1993.
- [118] Daniel A Beard and James B Bassingthwaighe. The fractal nature of myocardial blood flow emerges from a whole-organ model of arterial network. *Journal of vascular research*, 37(4):282–296, 2000.
- [119] M Zamir. Fractal dimensions and multifractality in vascular branching. *Journal of Theoretical Biology*, 212(2):183–190, 2001.
- [120] Mohd Zulfaezal Che Azemin, Dinesh Kant Kumar, Tien Y Wong, Jie Jin Wang, Paul Mitchell, Ryo Kawasaki, and Henry Wu. Age-related rarefaction in the fractal dimension of retinal vessel. *Neurobiology of Aging*, 33(1):194–e1, 2012.
- [121] Michael F Shlesinger and Bruce J West. Complex fractal dimension of the bronchial tree. *Physical review letters*, 67(15):2106, 1991.
- [122] Andreas Schmidt, Stephan Zidowitz, Andres Kriete, Thorsten Denhard, Stefan Krass, and Heinz-Otto Peitgen. A digital reference model of the human bronchial tree. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 28(4):203–211, 2004.
- [123] Ahihiko Kikuchi, Shiro Kozuma, Ken Sakamaki, Makiko Saito, Genzo Marumo, Toshiharu Yasugi, and Yuji Taketani. Fractal tumor growth of ovarian cancer: sonographic evaluation. *Gynecologic oncology*, 87(3):295–302, 2002.
- [124] H Ahammer, Ch Helige, G Dohr, U Weiss-Fuchs, and H Juch. Fractal dimension of the choriocarcinoma cell invasion front. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 237(4):446–453, 2008.

## Referencias

---

- [125] Hans E Schepers, Johannes HGM van Beek, and James B Bassingthwaite. Four methods to estimate the fractal dimension from self-affine signals. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 11(2):57–64, 2002.
- [126] Renaud Lopes and Nacim Betrouni. Fractal and multifractal analysis: a review. *Medical image analysis*, 13(4):634–649, 2009.
- [127] Xinyi Guo, Keith Bonin, Karin Scarpinato, and Martin Guthold. The effect of neighboring cells on the stiffness of cancerous and non-cancerous human mammary epithelial cells. *New Journal of Physics*, 16(10):105002, 2014.
- [128] Xueqin Zhao, Yunxin Zhong, Ting Ye, Dajing Wang, and Bingwei Mao. Discrimination between cervical cancer cells and normal cervical cells based on longitudinal elasticity using atomic force microscopy. *Nanoscale research letters*, 10(1):482, 2015.
- [129] Simon S Cross. The application of fractal geometric analysis to microscopic images. *Micron*, 25(1):101–113, 1994.
- [130] Arkady Bitler, Ron S Dover, and Yechiel Shai. Fractal properties of cell surface structures: A view from afm. In *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Elsevier, 2017.
- [131] Yuval Gefen, Yigal Meir, Benoit B Mandelbrot, and Amnon Aharony. Geometric implementation of hypercubic lattices with noninteger dimensionality by use of low lacunarity fractal lattices. *Physical Review Letters*, 50(3):145, 1983.
- [132] Roy E Plotnick, Robert H Gardner, and Robert V O’Neill. Lacunarity indices as measures of landscape texture. *Landscape ecology*, 8(3):201–211, 1993.
- [133] Andrew J Einstein, Hai-Shan Wu, and Joan Gil. Self-affinity and lacunarity of chromatin texture in benign and malignant breast epithelial cell nuclei. *Physical Review Letters*, 80(2):397, 1998.
- [134] Leandro Alves Neves, MZ Nascimento, DLL Oliveira, Alessandro Santana Martins, MF Godoy, PFF Arruda, Dalisio de Santi Neto, and José Marcio Machado. Multi-scale lacunarity as an alternative to quantify and diagnose the behavior of prostate cancer. *Expert Systems with Applications*, 41(11):5017–5029, 2014.
- [135] Przemyslaw Borys, Monika Krasowska, Zbigniew J Grzywna, Mustafa BA Djamgoz, and Maria E Mycielska. Lacunarity as a novel measure of cancer cells behavior. *Biosystems*, 94(3):276–281, 2008.

- [136] Igor Pantic, Ljubica Harhaji-Trajkovic, Aleksandar Pantovic, Nebojsa T Milosevic, and Vladimir Trajkovic. Changes in fractal dimension and lacunarity as early markers of uv-induced apoptosis. *Journal of theoretical biology*, 303:87–92, 2012.
- [137] Gopal Karemore and Mads Nielsen. Fractal dimension and lacunarity analysis of mammographic patterns in assessing breast cancer risk related to hrt treated population: a longitudinal and cross-sectional study. *Medical Imaging*, pages 72602F–72602F, 2009.
- [138] Caroline A Schneider, Wayne S Rasband, and Kevin W Eliceiri. Nih image to imagej: 25 years of image analysis. *Nature methods*, 9(7):671–675, 2012.
- [139] Audrey Karperien. Fraclac for imagej. *Charles Sturt University*, 2013.
- [140] Nirupam Sarkar and Bidyut Baran Chaudhuri. An efficient approach to estimate fractal dimension of textural images. *Pattern recognition*, 25(9):1035–1041, 1992.
- [141] Pinliang Dong. Test of a new lacunarity estimation method for image texture analysis. *International Journal of Remote Sensing*, 21(17):3369–3373, 2000.
- [142] Cloitre Allain and M Cloitre. Characterizing the lacunarity of random and deterministic fractal sets. *Physical review A*, 44(6):3552, 1991.
- [143] Igor Sokolov. Fractals: a possible new path to diagnose and cure cancer?, 2015.
- [144] H Eugene Stanley. Application of fractal concepts to polymer statistics and to anomalous transport in randomly porous media. *Journal of Statistical Physics*, 36(5):843–860, 1984.
- [145] David R Hidalgo-Olguín, Rogelio O Cruz-Vázquez, Salomón J Alas-Guardado, and Armando Domínguez-Ortiz. Lacunarity of classical site percolation spanning clusters built on correlated square lattices. *Transport in Porous Media*, 107(3):717–729, 2015.
- [146] Melbs C LeMieux, Denys Usov, Sergiy Minko, Manfred Stamm, and Vladimir V Tsukruk. Local chain organization of switchable binary polymer brushes in selective solvents. *Polymer Brushes: Synthesis, Characterization, Applications*, pages 427–440, 2005.
- [147] I Horcas, Rs Fernández, JM Gomez-Rodriguez, J Colchero, JWSXM Gómez-Herrero, and AM Baro. Wsxm: a software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. *Review of Scientific Instruments*, 78(1):013705, 2007.